
EXTRAKTION, LUMINESZENZ UND
PHOTOCHEMISCHES VERHALTEN
VON AESCULIN AUS
KASTANIENZWEIGEN
SCHULVERSUCHE MIT AESCULIN

Schriftliche Hausarbeit im Rahmen der Ersten Staatsprüfung für das Lehramt der
Sekundarstufe II und Sekundarstufe I,
dem Staatlichen Prüfungsamt für Erste Staatsprüfungen für Lehrämter an Schulen
Essen – Dienststelle Wuppertal – vorgelegt von

Nico Tobias Meuter

Erkrath, April 2012

Themensteller:

Prof. Dr. M. W. Tausch

Fachbereich C, Chemie und ihre Didaktik

INHALTSVERZEICHNIS

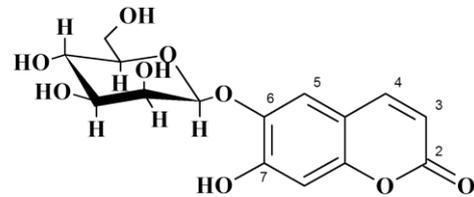
1. Einleitung	1
2. Fachliche Grundlagen	3
2.1. Fluoreszenz von Aesculin	3
2.2. Phosphoreszenz	5
2.3. Lichtgetriebene chemische Reaktionen – PinaKolisierung	6
2.4. Säure-Base-Verhalten	8
2.5. Aesculin im Kastanienzweig	8
3. Experimente mit Aesculin	10
3.1. Mikroskopstudien: Aesculin-Fundorte im Kastanienzweig.....	10
3.2. Extraktion von Aesculin aus Kastanienzweig.....	12
3.2.1. Mikroskopaufnahmen von Aesculin.....	14
3.3. Fluoreszenz von Aesculin in Wasser	15
3.4. Fluoreszenz von Aesculin in Glycerin	16
3.5. Chromatographie von Kastanienextrakt	18
3.6. Phosphoreszenz von Aesculin	19
3.7. Emissionsspektren.....	20
3.7.1. Emissionsspektrum von Aesculin in Glycerin	21
3.7.2. Emissionsspektren von Aesculin in Wasser.....	22
3.7.3. Emissionsspektrum von Aesculin / Cumarin.....	23
3.8. Lichtbeständigkeit von Aesculin.....	25
3.8.1. Lichtbeständigkeit von Aesculin in Wasser, Vorversuche	25
3.8.2. Lichtbeständigkeit von Aesculin in Wasser, pH =7.....	28
3.8.3. Lichtbeständigkeit von Aesculin in Wasser, pH = 3.....	29
3.8.4. Lichtbeständigkeit von Aesculin in Wasser, pH = 9.....	31
3.8.5. Lichtbeständigkeit von Aesculin in Isopropanol.....	32
3.8.5. Lichtbeständigkeit von Aesculin in Isopropanol/Wasser, pH = 9.....	33
3.8.6. Lichtbeständigkeit von Aesculin in Aceton/Wasser, Ph=9	34
Auswertung Der Versuche zur Lichtbeständigkeit	37
3.9. Antioxidative Wirkung von Aesculin	45
3.10. Herstellung einer Aesculin-Stärkefolie.....	46

3.11. Aesculin als Weißmacher	47
4. Didaktische Überlegungen.....	48
4.1. Einsatzmöglichkeiten in der Grundschule.....	48
4.2. Chromatographie	49
4.3. Einstiegsexperiment - Konzentrationsbestimmungen.....	50
4.4. Naturstoffe	49
4.5. Farbigkeit durch Lichtemission	51
4.6. Struktur und Farbigkeit - Reaktionsmechanismus.....	52
5 Zusammenfassung und Ausblick.....	54
Zusammenfassung	54
Ausblick	55
Literaturverzeichnis	A
Abbildungsverzeichnis	D
Anhang A: Gefahrstoffhinweise nach GHS	G
Aceton [22].....	G
Aesculin-Hydrat [9]	G
Cumarin [8].....	G
Eisen(III)-chlorid [22]	G
Ethanol [22]	G
Fraxin [23]	G
Glycerin [22]	G
Kaliumhexacyanoferrat(III) [22]	H
Natriumhydroxid [22].....	H
Propan-1-ol [22]	H
Propan-2-ol [22]	H
Salzsäure, $c = 0,1 \text{ mol/L}$ [22]	H
Stärke [22]	H
Anhang B: Verfahren „Boxcar“	I
ANHANG C: Erklärung über das selbständige Verfassen der Arbeit.....	J
Versicherung	J

1. EINLEITUNG

Bereits im Jahre 1833 wurde ein Verfahren zur Extraktion von Aesculin, dem damals sogenannten Schillerstoff für pharmazeutische Zwecke beschrieben [1]. Es muss sich hierbei jedoch nicht um die erste Aufzeichnung handeln.

In den nun gut 180 Jahren, die seit der Veröffentlichung der hier zitierten *Annalen der Pharmacie* vergangen sind, hat sich die Wissenschaft auch weiterhin mit Aesculin und weiteren Derivaten des Cumarins beschäftigt.



B1: Aesculin

Aesculin soll entzündungshemmend, zytostatisch, als Antimutagen und als Radikalfänger wirken, wobei letzteres bei Oligomeren des Aesculins sogar noch stärker wirkt [2]. In der Mikrobiologie findet Aesculin Anwendung beim Nachweis von Enterokokken: Es werden Bakterienkulturen auf ein Galle-Aesculin-Agar gegeben. Enterokokken hydrolysieren das Aesculin dabei zu 6,7-Hydroxy-Cumarin, welches mit Eisen(III)-citrat einen braunen bis schwarzen Komplex ergibt. [3].

Neben diesen pharmazeutischen Wirkungen ist Aesculin auch einer der ersten optischen Aufheller: Um 1929 wurde von Paul Kraus beobachtet, dass einige Textilien nach Behandlung mit Aesculin heller wirkten als zuvor. Da die ersten optischen Aufheller jedoch unter anderem wenig lichtbeständig waren, wurden weitere entwickelt [4].

Der Effekt der optischen Aufhellung beruht auf der im UV-Licht gut sichtbaren bläulichen Fluoreszenz des Aesculins. Die so erzielte Erhöhung des blauen Lichtanteils sorgt dafür, dass die Kleidung weniger vergilbt, also heller wirkt.

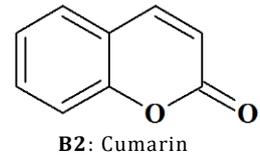
Die blaue Fluoreszenz unter UV-Licht ist ein Indiz dafür, dass Aesculin auch die Möglichkeit hat, auf andere Arten zu lumineszieren. Zum Beispiel kann man Aesculin mit Ozon zur Chemolumineszenz anregen [5]. Im Laufe dieser Arbeit wird gezeigt, dass Aesculin bei niedrigen Temperaturen in einem geeigneten Lösemittel zur Phosphoreszenz angeregt werden kann.

Für den Einsatz in der Schule findet man zwar mehrere Versuche, die weitere in der Rosskastanie enthaltene Naturstoffe nutzen [6], aber die Versuche zu Aesculin beschränken sich nur auf die Extraktion des Aesculins oder das Eintauchen eines Zweiges in ein Becherglas mit Wasser („Weinender Kastanienzweig“ [7; 6]).

Ziel dieser Arbeit ist es, Aesculin aus den Zweigen der Rosskastanie zu extrahieren, die Lumineszenz bei unterschiedlichen Temperaturen, in verschiedenen Lösemitteln und Matrices sowie das photochemische Verhalten von Aesculin zu untersuchen. Ein weiterer Teil der Arbeit besteht aus der Entwicklung von Schulversuchen zum Einsatz im Unterricht. Es folgen Beispiele für die Eingliederung der erarbeiteten Versuche in den Lehrplan der Chemie und Grundlagen zur Auswertung der Versuche.

2. FACHLICHE GRUNDLAGEN

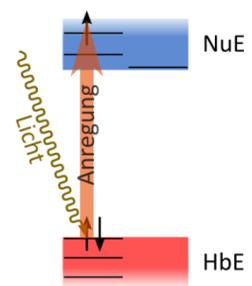
Aesculin ist ein Derivat des in Pflanzen vorhandenen Cumarin, im Gegensatz zu diesem jedoch gut wasserlöslich. Cumarin ist als gesundheitsschädlich bzw. nach GHS sogar als giftig eingestuft [8], Aesculin ist jedoch vollkommen harmlos [9]. Ein weiterer Unterschied ist, dass Cumarin im Gegensatz zu Aesculin unter UV-Licht nicht fluoresziert.



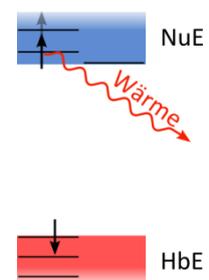
2.1. FLUORESZENZ VON AESCULIN

Die wohl auffälligste Eigenschaft des Aesculins ist eine blau-grüne Fluoreszenz in wässriger Lösung unter Einwirkung von UV-Licht ($\lambda < 420 \text{ nm}$). UV-Licht ist sehr energiereiches Licht, welches die Aesculin-Moleküle in einen angeregten Zustand versetzt. Bei der Rückkehr in den Grundzustand geben die angeregten Aesculin-Moleküle die aufgenommene Energie wieder in Form von sichtbarem Licht ($\lambda \geq 420 \text{ nm}$) ab.

Aesculin gehört zu einer Reihe von Stoffen, die Licht im ultravioletten Bereich absorbieren, wie zum Beispiel Aceton, Benzophenon oder Glas. Die Eigenschaft des Aesculins zu fluoreszieren, hebt es jedoch deutlich von anderen Stoffen dieser Art ab. Beispielsweise absorbiert Aceton zwar Licht im ultravioletten Bereich, weist jedoch keine Fluoreszenz auf [10].



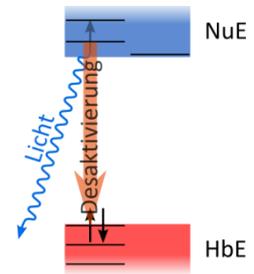
Bei der Fluoreszenz kommt es im Molekül durch UV-Licht zu einer energetischen Anregung. Elektronen werden aus der höchsten besetzten Energiestufe (hier HbE) durch Energieaufnahme in eine der darüber liegenden unbesetzten Energiestufen „gehoben“. Der so erreichte angeregte Zustand, wird als Singlett-Zustand bezeichnet. Die nebenstehenden Energiestufen-Modelle sollen diesen Vorgang verdeutlichen.



Einen Teil der aufgenommenen Energie gibt das Molekül durch Schwingungsrelaxationen – Schwingungen an den Bindungen, Drehungen um Einfachbindungen, Stöße mit anderen Molekülen – ab:

Das Elektron „fällt“ durch Energieabgabe in Form von Wärme auf die niedrigste unbesetzte Energiestufe (hier NuE), von der aus es letztendlich wieder zur HbE gelangt.

Je nach Molekülaufbau gibt es jedoch gewisse Energiebereiche, in denen sich ein Elektron nicht aufhalten kann. Um diese Energielücken zu überbrücken, muss das Elektron mehr Energie abgeben, um diese zu überwinden. Bei der folgenden Desaktivierung wird Energie in Form von sichtbarem Licht abgegeben: Der Stoff fluoresziert in einer charakteristischen Farbe.



B5: Energiestufen-Modell zur Fluoreszenz

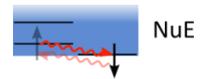
Der abgestrahlte Lichtquant ist weniger energiereich als der aufgenommene, da bei diesem Vorgang ein Teil der Energie, wie man aus den Zwischenschritten leicht erkennen kann – in Wärme umgewandelt wird. Die Wellenlänge des Lichtquants ist also länger und liegt im sichtbaren Bereich des elektromagnetischen Spektrums.

Der gesamte Vorgang dauert wenige Nanosekunden, also ca. 10^{-9} s.

2.2. PHOSPHORESZENZ

Betrachtet man Aesculin-Proben, die in Glycerin gelöst wurden, bei niedrigen Temperaturen ($-32\text{ }^{\circ}\text{C}$ und tiefer, vgl. 3.6. Phosphoreszenz von Aesculin), so tritt ein weiteres Phänomen auf: Nach Entfernen der UV-Lichtquelle leuchtet die Probe noch einige Sekunden nach.

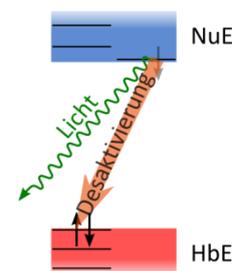
Normalerweise sind die Aesculin-Moleküle in Lösung frei beweglich. Bei zunehmender Kühlung werden die Beweglichkeit, und damit die Möglichkeit für Schwingungsrelaxationen und Stöße gegen andere Moleküle, mehr und mehr eingeschränkt. In einer erstarrten Lösung bilden die Lösemittelmoleküle ein Kristallgitter aus und setzen die darin enthaltenen Aesculin-Moleküle fest.



B6: Energiestufen-Modell Bildung des energieärmeren Triplett-Zustands durch Spinumkehr

Kommt es bei einem so „festgesetzten“ Molekül zu einer energetischen Anregung durch UV-Licht, kann es nach Übergang in den angeregten Singlett-Zustand zu einer Spinumkehr beim Elektron in der NuE kommen, da dies energetisch günstiger ist [11]. Die Elektronen in der höchsten besetzten Energiestufe sowie in der niedrigsten unbesetzten Energiestufe haben denselben Spin. Da auf einer Energiestufe jedoch nur zwei Elektronen mit entgegengesetztem Spin existieren können, kann der so erzeugte Triplett-Zustand erst desaktivieren, wenn dabei auch eine erneute Spinumkehr erfolgt.

Dieser Vorgang ist nach den Regeln der Quantenmechanik verboten, wodurch die Lebenszeit des Triplett-Zustands 10^{10} mal höher ist als die des Singlett-Zustands [12]. Dadurch kann die Phosphoreszenz bis zu zehn Sekunden, teilweise sogar länger anhalten. Das ist beispielsweise bei den „glow-in-the-dark“-Materialien an Notausgangsschildern der Fall.



B7: Desaktivierung aus dem Triplett-Zustand

2.3. LICHTGETRIEBENE CHEMISCHE REAKTIONEN – PINAKOLISIERUNG

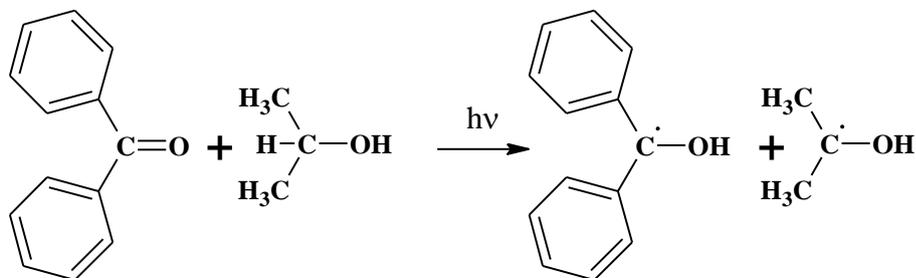
Angeregte Zustände werden nicht nur durch Bestrahlung mit Licht erzeugt. Es existieren mehrere chemische Reaktionen, bei denen eines der Produkte direkt im angeregten Zustand entsteht und die freiwerdende Energie in Form von Licht abgibt. Diesen Vorgang kann man bei Luminol, z.B. der „kalten Weißglut“ und dem „Luminolspringbrunnen“ [12] beobachten. In der Natur kommt er bei Glühwürmchen vor, wo er jedoch häufig als Biolumineszenz bezeichnet wird.

Ein angeregtes Molekül muss nicht immer seine Energie in Form von Licht oder Wärme abgeben – diese Energie kann auch dazu genutzt werden, um chemische Reaktionen in Gang zu bringen. In der Natur nutzen die Pflanzen dieses Prinzip, um mithilfe der Photosynthese Licht in chemische Energie umzuwandeln und in Kohlenhydraten zu speichern.

In der Schule ist die radikalische Addition von Brom an Alkene bekannt. In diesem Fall werden durch Absorption von Licht Brommoleküle homolytisch in Radikale gespalten werden.

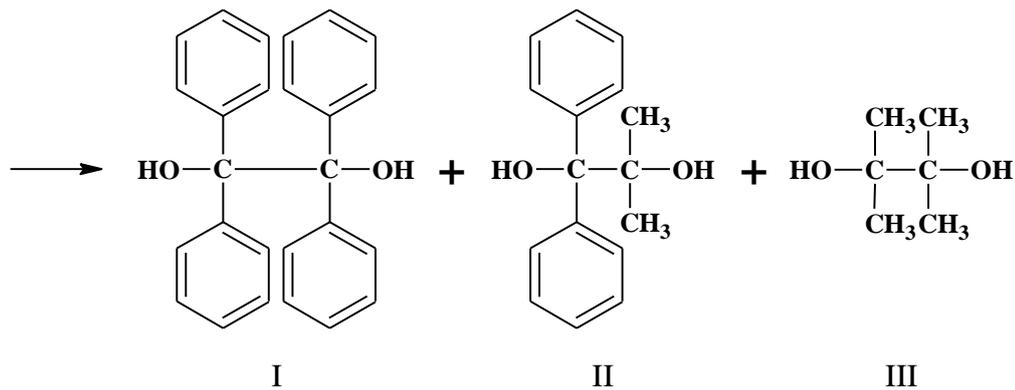
Eine andere durch Licht ausgelöste Reaktion ist die Pinakolisierung [10]. Dabei reagieren ein Keton und ein sekundärer Alkohol unter Bildung eines Diols miteinander. Der Vorgang soll im folgendem am Beispiel der Reaktion von Benzophenon und Propan-2-ol verdeutlicht werden.

Benzophenon absorbiert Licht im UV-Bereich (Absorptionsmaximum bei $\lambda = 333 \text{ nm}$ [10]) und wechselt aus dem angeregten Singlett- in den Triplett-Zustand.



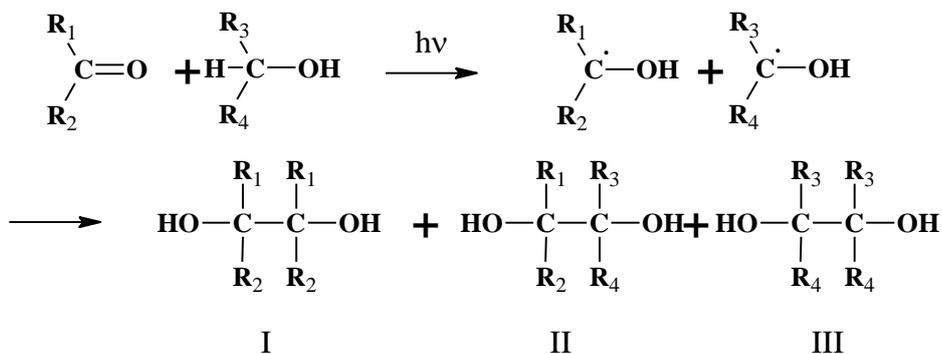
Dieser Zustand ist ausreichend langlebig, so dass es zu einem bimolekularen Stoß mit einem Propan-2-ol-Molekül kommen kann. Dabei abstrahiert das angeregte Benzophenon-Molekül aus dem Propan-2-ol-Molekül ein Wasserstoffatom.

Es entstehen zwei Radikale, die durch Zusammenschluss ein Diol-Molekül bilden, in dem die Hydroxygruppen an tertiäre Kohlenstoff-Atome gebunden sind.



Da der Triplett-Zustand relativ stabil ist und mehrere Sekunden aufrechterhalten werden kann, können die drei unterschiedlichen Produkte I, II und III entstehen, je nachdem ob sich zwei gleiche oder zwei unterschiedliche Radikale zusammenschließen [12].

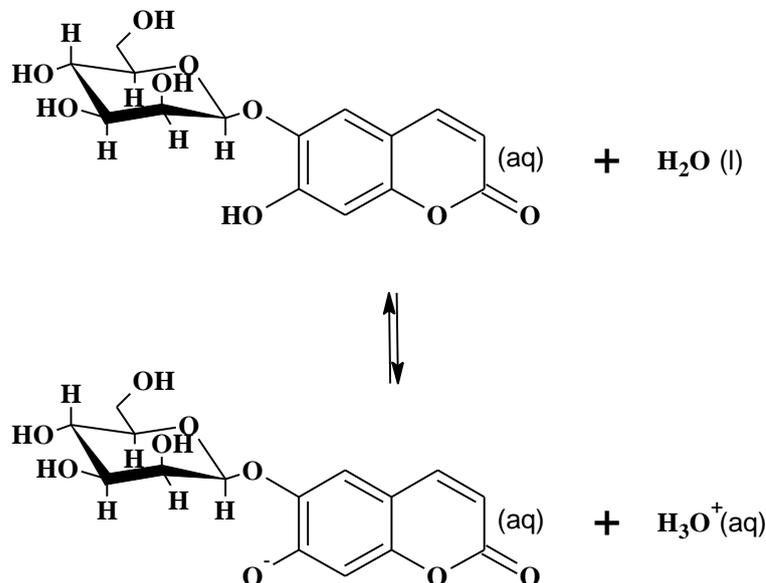
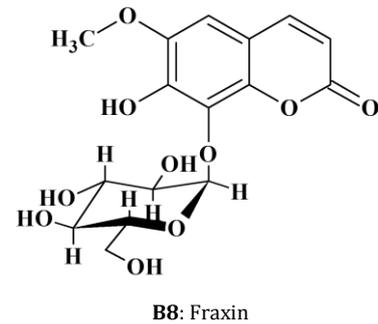
Es ist anzunehmen, dass Aesculin ebenfalls eine photoinduzierte chemische Reaktion eingeht, da die Fluoreszenz von Aesculin in wässriger Lösung nach einigen Minuten unter UV-Licht abnimmt. Es wird davon ausgegangen, dass hier eine intramolekulare Pinakolisierung stattfindet [10].



2.4. SÄURE-BASE-VERHALTEN

Wird zu einer Lösung aus Kastanienzweig-Extrakt wenig Säure gegeben, so ist zu beobachten, dass die Fluoreszenz verschwindet, bei Zugabe einer Base jedoch wieder zurückkehrt [1]. Aesculin kann also in einer ionischen und einer anionischen Form vorliegen. Der pK_s -Wert von Aesculin liegt

bei 6,56 [13], der Umschlagpunkt liegt also in der Nähe von $pH = 7$. Es kann angenommen werden, dass in Wasser folgendes Gleichgewicht vorliegt:



2.5. AESCULIN IM KASTANIENZWEIG

Bei der Gewinnung von Aesculin aus Kastanienzweigen sollte bedacht werden, dass dies ein Naturprodukt ist. Neben Aesculin befinden sich noch weitere Naturstoffe im Rosskastanienzweig. Lässt man die offensichtlichen Stoffe, wie das Chlorophyll unter der Rinde und die Cellulose außer Acht, so findet man auch Aesculetin. Bei Aesculetin handelt es sich um die hydrolysierte Form des Aesculins, also 6,7-Dihydroxycumarin.

Ein weiterer Bestandteil dieses Naturstoffgemischs ist der Fluorophor Fraxin [14]. Fraxin fluoresziert türkis-grün und ergibt zusammen mit der eher fahlblauen Fluoreszenz des Aesculins ein hellblaues Leuchten.

Namensgeber des Fraxins ist die Esche (Fraxinus). Neben Fraxin ist auch bei der Esche unter der Rinde Aesculin zu finden. Diese Stoffe sind auch in Kiwis zu finden [15] und neben weiteren Cumarin-Derivaten auch in den Samen der wilden Lupine enthalten [16].

Der Aesculingehalt variiert dabei je nach Pflanze und Jahreszeit. So enthält ein Kastanienzweig während der Sommermonate am meisten Aesculin und Fraxin, im Frühling und Winter weniger und im Herbst am wenigsten. Auch enthalten ältere Zweigabschnitte mehr Aesculin als jüngere. Die Rinde eines Kastanienzweigs mit etwa 5 cm Durchmesser enthält im Sommer bis zu 5,96 % Aesculin und ca. 2,62 % Fraxin im Winter 4,11 % Esculin und 1,53 % Fraxin. Im Frühling etwa 4,10 % Aesculin und 1,86 % Fraxin. Im Gegensatz dazu im Herbst nur 3,61 % Aesculin und 1,50 % Fraxin [14].

3. EXPERIMENTE MIT AESCULIN

Zur Untersuchung der Kastanienzweige wurde das Mikroskop VHX-1000D der Firma KEYENCE mit den Objektiven VH-Z20R (Vergrößerungen 20x bis 200x) und VH-Z100R (Vergrößerungen 100x bis 1000x) verwendet. Die bei der Untersuchung entstandenen mikroskopischen Aufnahmen wurden über die angeschlossene Digitaleinheit auf einen Computer übertragen und in der Arbeit abgebildet.

Um Aufnahmen unter UV-Licht darstellen zu können, wurde eine UV-Leuchtstoffröhre aus dem Baumarkt („Omnilux 15 W G 13 T 8 45 cm“) genutzt.

Zusätzlich wurden auch Aufnahmen mit reinem Aesculin ($\geq 98\%$) aufgenommen. Bezugsquelle: Sigma, E8250, 5 g für 28,10 €.

3.1. MIKROSKOPSTUDIEN: AESCULIN-FUNDORTE IM KASTANIENZWEIG

Betrachtet man einen Kastanienzweig im Querschnitt, werden mehrere Ringe deutlich sichtbar, deren Anzahl vom Durchmesser des Zweiges unabhängig ist. Der Aufbau des Zweigs stellt sich wie folgt dar:

Direkt unter der Rinde befindet sich eine sehr dünne grün-braune Schicht, gefolgt von einer dicken, weißen und harten Schicht. Diese Schicht ist das Holz des Zweiges.

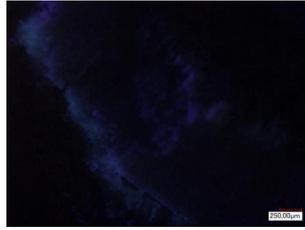
Danach ist wieder eine dünne braune Schicht zu sehen, die das Holz vom sehr weichen Mark trennt, das die Mitte des Kastanienzweiges darstellt. Das meiste Aesculin befindet sich immer direkt unter der Rinde [14].



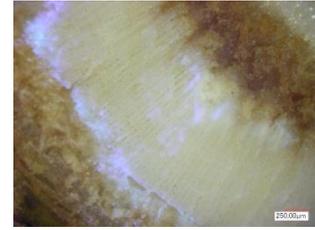
B9: Kastanienzweig im Querschnitt



B10: Kastanienzweig in 100-facher Vergrößerung



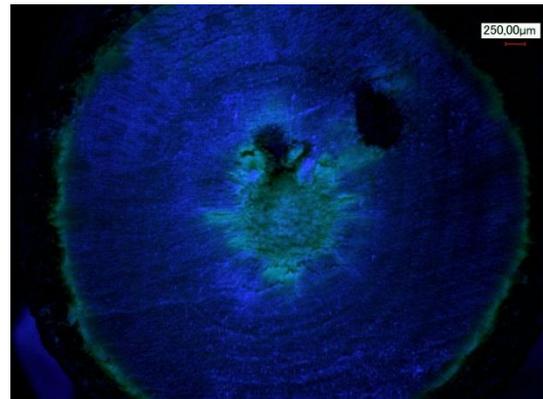
B11: Aufnahme der Fluoreszenz unter UV-Licht - 3,2 Sekunden Belichtungszeit



B12: Die Überlagerung der Bilder zeigt deutliches Aesculin-Vorkommen unter der Rinde

An einigen Stellen in diesem Zweig konnte Aesculin im Mark festgestellt werden.

Bei einem weiteren Baum befand sich Aesculin sogar durchgängig im Mark der untersuchten Zweige.



B13: Aesculin und Fraxin deutlich im Mark und unter der Rinde sichtbar

3.2. EXTRAKTION VON AESCULIN AUS KASTANIENZWEIGEN

In der Literatur [1] wurde zur Extraktion des Aesculins gepulverte Roskastanienrinde mit der sechsfachen Gewichtsmenge an 85%igem Ethanol übergossen, erhitzt, filtrieren und eingedampft.

Um Lösemittel zu sparen beschreiben Gordana Stanić, Blaženka Jurišić und Dragomir Brkić eine Methode bei der das Aesculin aus gepulverter luftgetrockneter Rinde extrahiert wird, indem es mit 80% - 100%igem Methanol, Rest Wasser, unter Rückfluss gekocht wird. Anschließend wird das Extrakt chromatographisch getrennt [14].

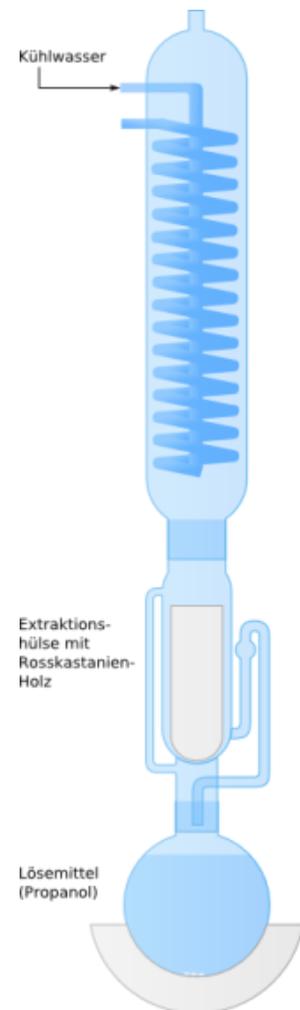
Da Methanol giftig ist, wurde in dieser Arbeit, mit dem Blick auf einen möglichen Einsatz in der Schule, für das Extraktionsverfahren ein leicht veränderter Versuchsaufbau und -durchführung gewählt:

Versuchsdurchführung

EXTRAKTION - V1

Ein 70 cm langer Kastanienzweigabschnitt, an der dicksten Stelle 2 cm im Durchmesser, an der dünnsten ca. 1,3 cm, wurde in 5 cm lange Abschnitte geschnitten. Die Abschnitte wurden großzügig entrindet, so dass hauptsächlich das Mark mit ein wenig umstehendem Holz übrig blieb. Diese Stücke wurden in der Mitte halbiert, so dass das Lösemittel dieses gut erreichen konnte.

40,3 g Kastanienholz wurden in eine 250-mL-Soxleth-Apparatur gegeben und mit einem 1-L-Rundkolben, indem sich ca. 800 mL Propan-1-ol befanden, verbunden. Nach 20 Stunden wurde der Extraktionsvorgang beendet, das Lösemittel in 100-mL-Portionen in einen 250-mL-Rundkolben überführt und bei ca. 50 °C unter vermindertem Druck im Rotationsverdampfer abdestilliert. Der sich bildende Rückstand wurde auf ein Uhrglas gegeben und nach Trocknung gewogen.



Beobachtungen

Bereits während der Extraktion färbt sich das Lösemittel gelblich und zeigt im UV-Licht eine blau-grüne Fluoreszenz, die mit der Zeit immer mehr zunimmt. Nach Abdestillieren erhält man einen orangen, körnigen Rückstand, indem einige Punkte blau-grün fluoreszieren. Die Masse des Extrakts betrug nach Trocknung 1,76 g.

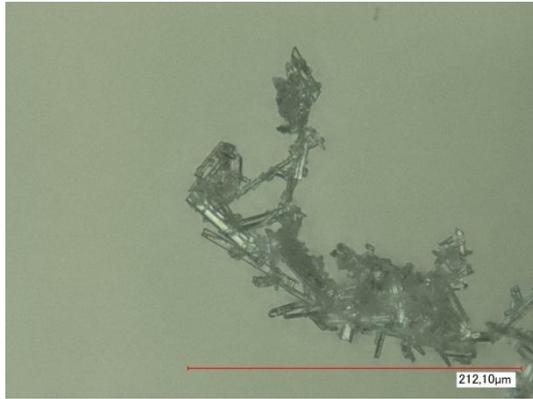
Erläuterungen

Wie schon in Abschnitt 2.5. *Aesculin im Kastanienzweig* erwähnt, ist das Extrakt ein Gemisch aus Aesculin, Fraxin, Aesculetin, und weiteren Substanzen, die hier nicht näher beschrieben werden sollen. Die orange Färbung kommt möglicherweise durch länger-kettige Zucker. Um diesen Sachverhalt näher zu untersuchen müssten die extrahierten Stoffe in einer Chromatographie-Säule getrennt und einzeln untersucht werden, was jedoch nicht Gegenstand dieser Arbeit ist.

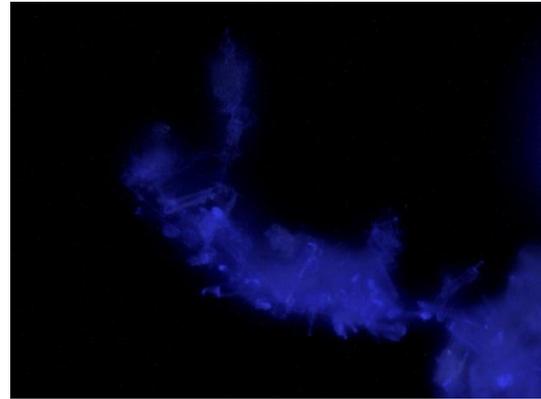
Die Ausbeute an Extrakt liegt bei ca. 4%, die von Aesculin und Fraxin deutlich darunter.

3.2.1. MIKROSKOPAUFNAHMEN VON AESCULIN

Unter dem Mikroskop, bei 1000-facher Vergrößerung, wird sichtbar, dass reines Aesculin nadelförmig auskristallisiert. Zusammen mit anderen Stoffen, wird es jedoch in deren Kristallstruktur mit eingebaut (vgl. **B18** und **B19**).



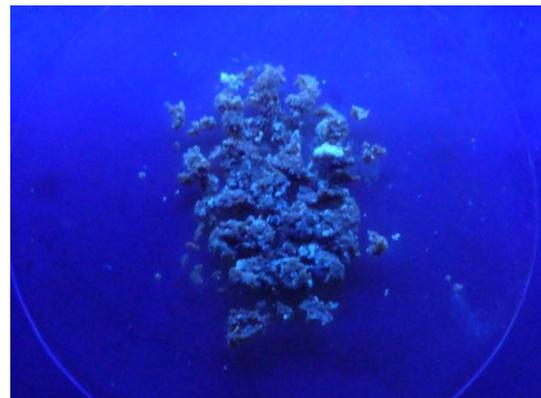
B14: Aesculin, $\geq 98\%$ in 1000-facher Vergrößerung



B15: Aesculin-Kristalle unter UV-Licht



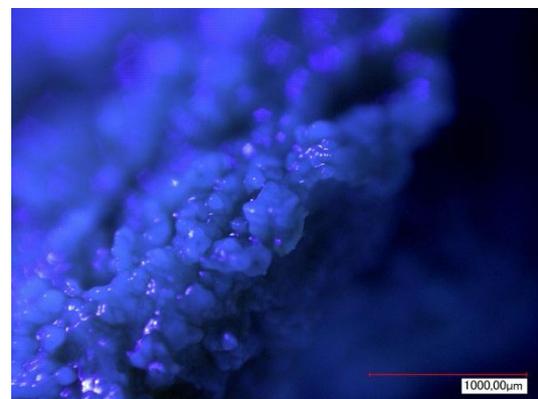
B16: Kastanienzweig-Extrakt nach dem Trocknen



B17: Kastanienzweig-Extrakt unter UV-Licht



B18: Kastanienzweig-Extrakt in 100-facher Vergrößerung



B19: Kastanienzweig-Extrakt unter UV-Licht

3.3. FLUORESZENZ VON AESCULIN IN WASSER

Versuchsdurchführung

DER WEINENDE KASTANIENZWEIG

In einen großen Glaszylinder wird ein unten angeschnittener Kastanienzweig gestellt und die Reaktion des Zweiges unter UV-Licht betrachtet.



B20: Der weinende Kastanienzweig

Als Alternative können auch selbst hergestelltes Extrakt oder einige Kristalle reines Aesculin in einem großen Reagenzglas bei Betrachtung unter UV-Licht gelöst werden. Hier zeigt sich der gleiche Effekt wie beim angeschnittenen Kastanienzweig (vgl. **B21**)



B21: Aesculin-Extrakt in Wasser

Beobachtungen

Im Licht der UV-Lampe werden hellblau leuchtende Schlieren sichtbar, deren Ursprung die angeschnittene Fläche des Kastanienzweiges ist. Beim Lösevorgang von Aesculin werden ebenfalls hell blaue Schlieren sichtbar. Ohne UV-Licht erscheint das Wasser hingegen farblos.

Erläuterungen

Die im Kastanienzweig enthaltenen Fluorophore Aesculin und Fraxin sind wasserlöslich und zeigen unter UV-Licht eine hellblaue Fluoreszenz. Diese kommt durch Lichtemission nach vorheriger Anregung durch das energiereiche UV-Licht zustande (vgl. auch Abschnitt 2.1. *Fluoreszenz*). Ohne diese Anregung kommt es zu keiner Fluoreszenz, weshalb die die Lösung ohne UV-Licht farblos erscheint.

3.4. FLUORESZENZ VON AESCULIN IN GLYCERIN

Versuchsdurchführung

VARIANTE 1

In ein Reagenzglas werden ca. 10 mL wasserfreies Glycerin gegeben. In das Glycerin werden einige Raspeln aesculinhaltiges Mark eines Kastanienzweiges gegeben. Das Reagenzglas wird für eine Woche – am besten verschlossen – im Dunkeln aufbewahrt.

Im Anschluss wird das Reagenzglas im Dunklen unter UV-Licht betrachtet. Zusätzlich wurden Emissionsspektren bei Anregung mit UV-Licht der Wellenlänge $\lambda = 376$ nm aufgenommen (vgl. Abschnitt 3.7. *Emissionsspektren*).

Beobachtungen

Ähnlich wie in Wasser (vgl. Abschnitt 3.3. *Fluoreszenz von Aesculin in Wasser*) werden unter UV-Licht hellblaue Schlieren sichtbar, die sich im Reagenzglas verteilen. In normalem Licht erscheint die Lösung farblos.

Erläuterungen

Auch das dickflüssige, wasserfreie Glycerin ist dazu in der Lage, Aesculin aus dem Kastanienholz zu lösen. Durch die recht hohe Viskosität des wasserfreien Glycerins vergeht jedoch sehr viel mehr Zeit, bis sich Aesculin in ausreichender Menge in Glycerin gelöst hat.

Versuchsdurchführung

VARIANTE 2

In ein Reagenzglas werden ca. 10 mL wasserfreies Glycerin gegeben. In das Glycerin werden nun etwa 2 mg Aesculin ($\geq 98\%$) gegeben. Das Reagenzglas wird für einige Stunden im Dunkeln aufbewahrt. Anschließend wird das Reagenzglas im Dunklen unter UV-Licht betrachtet. (vgl. Abschnitt 3.7. *Emissionsspektren*)

Beobachtungen

Es ist nur eine schwach blaue Fluoreszenz unter UV-Licht zu beobachten, ohne UV-Licht erscheint die Lösung farblos.

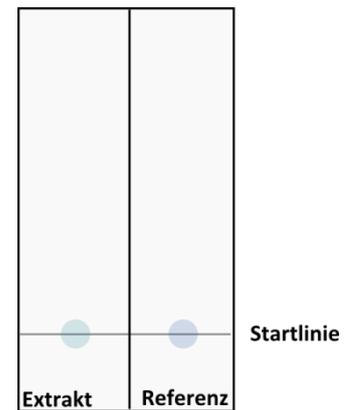
Erläuterungen

Im Gegensatz zu Variante 1 ist die Fluoreszenz schwächer ausgeprägt. Dies ist dadurch zu erklären, dass hier nur reines Aesculin vorliegt, im Kastanienzweig jedoch auch Fraxin enthalten ist, das eine stärkere türkis-grüne Fluoreszenz aufzeigt (vgl. auch Abschnitt 3.5. *Chromatographie von Kastanienextrakt*).

3.5. CHROMATOGRAPHIE VON KASTANIENEXTRAKT

Versuchsdurchführung

Eine DC-Folie, beschichtet mit Kieselgel, wurde in der Mitte durch Einritzen in zwei Hälften getrennt. Auf die linke Hälfte wurden 5 μL Kastanienzweigextrakt in Wasser aufgetragen. Das Extrakt wurde in 1- μL -Schritten und bis immer zur Trocknung gewartet. Auf der rechten Hälfte wurde 1 μL Aesculin-Lösung als Referenz aufgetragen.



B22: Präparation der DC-Folie

Die DC-Folie wurde in eine DC-Kammer gestellt, in der sich ein Ethanol-Wasser-Gemisch (1:2) als Laufmittel befand. Sobald die Laufmittelfront wenige Millimeter vom Ende der DC-Folie entfernt ist, wurde die Folie aus der Kammer entfernt und unter UV-Licht betrachtet.

Beobachtungen

Auf der Seite mit dem Kastanienzweig-Extrakt sind unter UV-Licht zwei Banden zu sehen, eine fahl blaue und eine türkis-grüne. Auf der Seite mit der Referenzprobe hingegen nur eine Bande. Die Strecke zwischen Lösemittelfront und Startpunkt betrug 5,8 cm, die der Referenzprobe und die oberste Bande beim Extrakt bis 5,6 cm, die der zweiten, türkis-grünen Bande, beim Extrakt betrug 4,8 cm. Aus diesen Strecken wurde rechnerisch der R_f -Wert bestimmt.



B23: DC-Folie unter UV-Licht

Erläuterungen

Durch die Referenzprobe ist leicht zu erkennen, dass es sich bei der oberen Bande um Aesculin handelt, demzufolge ist die zweite Bande Fraxin. Der zweite im Kastanienzweig enthaltene Fluorophor ist ein wenig schwächer polar als Aesculin, daher bleibt es auf der DC-Folie hinter Aesculin zurück. Die hier experimentell bestimmten R_f -Werte betragen für das gewählte Fließmittel für Aesculin 0,96 und für Fraxin 0,82.

3.6. PHOSPHORESZENZ VON AESCULIN

Versuchsdurchführung

Aesculin wurde in Glycerin gelöst und anschließend mit Trockeneis auf -50 °C gekühlt. Die Proben wurden unter UV-Licht betrachtet und auf Vorhandensein von Phosphoreszenz geprüft. Es wurde die Temperatur ermittelt, bei der das Gemisch erstarrt und Phosphoreszenz auftritt.

Beobachtungen

Das Gemisch erstarrt bei ca. -31 °C , ab dieser Temperatur tritt auch die erste, kurze Phosphoreszenz auf, deren Dauer bei tieferer Temperatur zunimmt. Bei ca. -50 °C ist im Dunkeln eine bis zu 4 s andauernde, grüne Phosphoreszenz zu erkennen.



B24: Phosphoreszenz von Aesculin

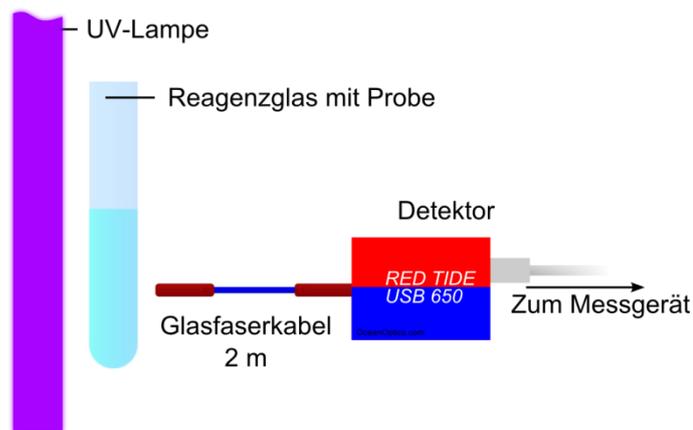
Erläuterungen

Ab -31 °C erstarrt das Aesculin-Glycerin-Gemisch. Die Glycerin-Moleküle ordnen sich also in einer festen Kristallstruktur an, in der die Aesculin-Moleküle eingeschlossen werden. Die Farbänderung und damit auch die längere Wellenlänge des ausgesandten Lichts ist ein Indiz, dass es bei der Phosphoreszenz zu einem anderen Übergang vom angeregten Zustand in den Grundzustand kommt als bei der Fluoreszenz. Wie in Abschnitt 2.2. *Phosphoreszenz* bereits beschrieben, kommt es durch die Anregung mit UV-Licht zur Ausbildung eines Triplett-Zustandes, dessen Lebensdauer um ein vielfaches höher ist, als der des Singlett-Zustandes. Da der Triplett-Zustand energieärmer als der Singlett-Zustand ist, sind die ausgesandten Lichtquanten solcher angeregten Moleküle energieärmer. Dies spiegelt sich in der längeren Wellenlänge wieder.

3.7. EMISSIONSSPEKTREN

Zur Aufnahme der Emissions-spektren wurden Proben mit einer UV-Handlampe, mit lang-welligem Licht, $\lambda = 376 \text{ nm}$ (vgl. **B26**) bestrahlt.

Das emittierte Licht wurde über ein 2-m-Glasfaserkabel an ein *Ocean Optics Red Tide USB 650* zur Detektion weiter-geleitet. Die Daten wurden zur Erfassung per USB-Anschluss an einen *Xplorer GLX™* übermittelt, in eine Textdatei exportiert und mit einer Tabellen-kalkulation ausgewertet.



B25: Versuchsaufbau zur Aufnahme der Emissionsspektren

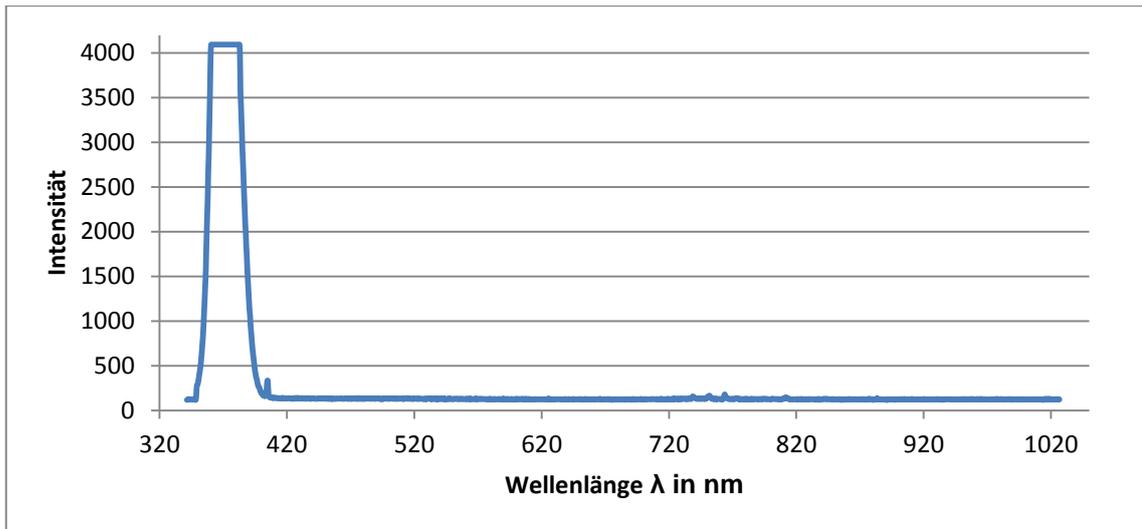
Für die Aufnahme der Spektren wurde eine Integrationszeit (Belichtungsdauer) von 1000 ms gewählt, und um das Rauschen des Gerätes abzumildern die Einstellung „Boxcar 5“ (vgl. Anhang B: Verfahren „Boxcar“).

Unter den oben genannten Bedingungen wurden folgende Spektren aufgenommen:

- Reine Aesculin-Probe
- Kastanienzweig-Extrakt in Glycerin
- Aesculin bei unterschiedlichen *pH*-Werten

Als Referenz wurden jeweils „Emissionsspektren“ der Lösemittel aufgenommen, damit die durchkommende UV-Strahlung aus dem Emissionsspektrum rechnerisch entfernt werden kann.

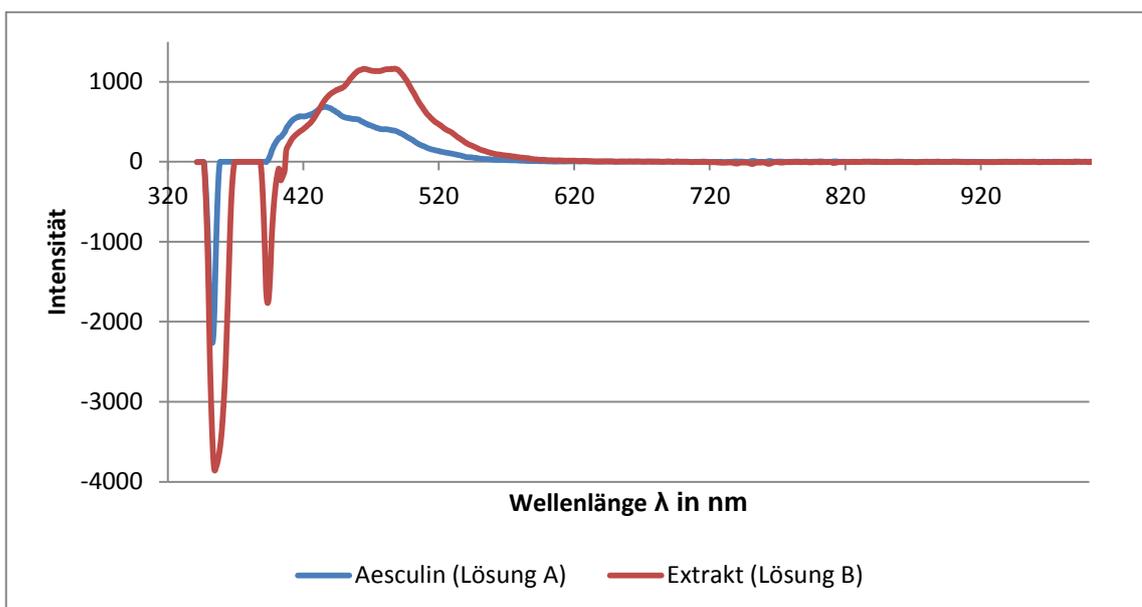
Bei einer Intensität von knapp über 4000 „Zählungen“ ist die obere Messwertgrenze des Systems erreicht, wodurch sich ein Plateau anstatt eines Peaks ausbildet (vgl. **B26**).



B26: Emissionsspektrum der benutzten UV-Lampe

3.7.1. EMISSIONSSPEKTRUM VON AESCULIN IN GLYCERIN

Zur Aufnahme der Spektren wurden in einem Reagenzglas 10 mg Aesculin in ca. 50 mL Glycerin gelöst (Lösung A) und in einem zweiten Reagenzglas wurde das Mark eines 20 cm langen Kastanienzweigstücks, Durchmesser ca. 1,3 cm in 50 mL Glycerin gegeben (Lösung B). Damit die Lösungen sich gut durchmischen bzw. eine durchgängige Extraktion durch Glycerin erfolgen konnte, wurden die Reagenzgläser eine Woche lang im Dunkeln aufbewahrt.



B27: Emissionsspektren von Aesculin und Kastanienzweigextrakt in Glycerin

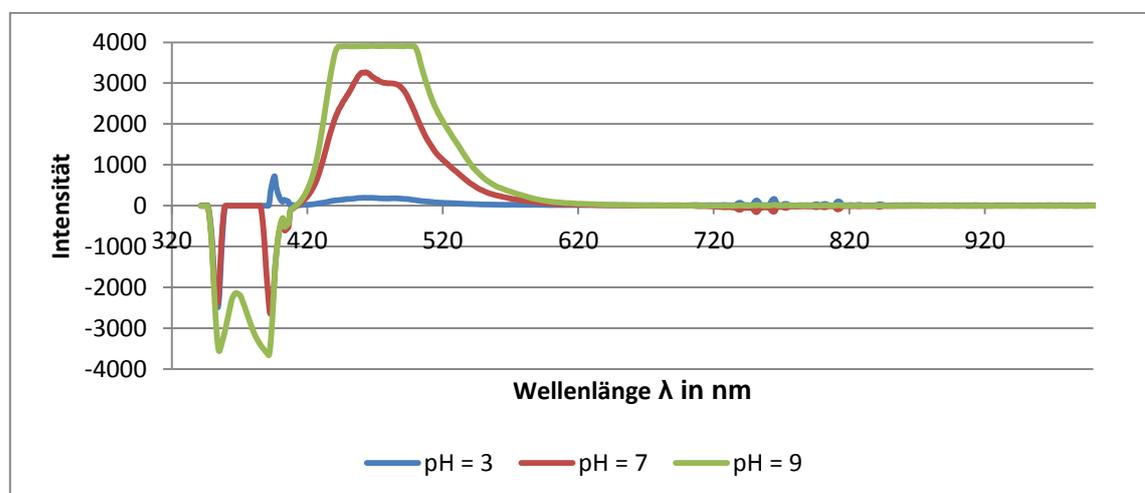
Die Lösungen wurden in eine 1 cm dicke Quarzküvette gegeben und die Spektren im Dunkeln aufgenommen. Als Referenz wurde mit Glycerin ein Spektrum aufgenommen und die Intensitäten voneinander subtrahiert, um die Emissionsspektren zu erhalten.

Die negativen Peaks stellen hierbei die Absorption des eingestrahlten Lichtes, die positiven Peaks die Emission dar. In Lösung A ist nur ein negativer Peak vorhanden, Lösung B zeigt dagegen zwei.

Da es sich bei Lösung A um Aesculin handelt, (Absorptionspeak bei $\lambda = 354$ nm, Emissionspeak bei $\lambda = 435$ nm), wird es sich beim zweiten Absorptionspeak bei Lösung B sehr wahrscheinlich um Fraxin handeln. Dies erklärt auch den verschobenen höheren Emissionspeak (Lösung B: Absorptionspeak 1 liegt bei $\lambda = 354$ nm, Absorptions-peak 2 bei $\lambda = 393$ nm, der höchste Emissionspeak liegt bei $\lambda = 485$ nm).

3.7.2. EMISSIONSSPEKTREN VON AESCULIN IN WASSER

Zur Bestimmung der Emissionsspektren von Aesculin in Wasser wurden wässrige Lösungen mit den pH-Werten 3, 7 und 9 hergestellt. Dabei wurde der pH-Wert der Lösungen jeweils vor Zugabe des Aesculins eingestellt. Die Lösung mit pH = 3 wurde mit Salzsäure eingestellt, die Lösung mit pH = 9 mit Natronlauge, die Lösung mit pH = 7 wurde aus VE-Wasser durch Zugabe von Natronlauge hergestellt.



B28: Emissionsspektren von Aesculin in Wasser bei unterschiedlichen pH-Werten

Zusätzlich wurden jeweils Spektren der Referenz-Lösungen und Lösungen, die mit weiterem Aesculin versetzt wurden, aufgenommen. Als Zusatz wurden je 2 mg Aesculin in 100 mL saurer, neutraler und alkalischer Lösung gelöst.

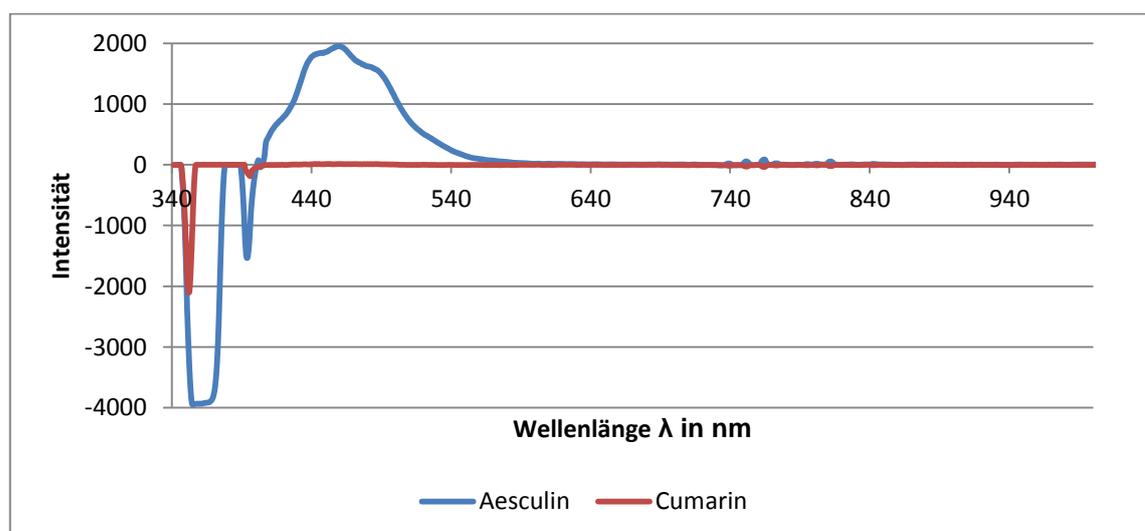
Es ist festzustellen, dass die Emission mit steigendem pH-Wert zunimmt, wie auch die Absorption in Emissionsbereich der UV-Lampe mit steigendem pH-Wert zunimmt.

Die zwei Absorptionspeaks im Bereich zwischen $\lambda_1 = 330$ nm und $\lambda_2 = 380$ nm liegen an den Stellen, an denen Aesculin ($\lambda = 336$ nm) und das Aesculin-Anion ($\lambda = 376$ nm) absorbieren (vgl. auch Abschnitt 2.4. *Säure-Base-Verhalten* und Abschnitt 3.8. *Lichtbeständigkeit von Aesculin*).

3.7.3. EMISSIONSSPEKTRUM VON AESCULIN / CUMARIN

Zur Aufnahme der Emissionsspektren von Aesculin und Cumarin wurden gesättigte Lösungen in Propan-1-ol hergestellt. Zur Herstellung der gesättigten Lösungen wurden ca. 10 mg Aesculin in 30 mL Propan-1-ol bzw. 30 mg Cumarin in 30 mL Propan-1-ol gelöst. Es bildeten sich jeweils Bodensätze.

Von Propan-1-ol wurde ein Referenzspektrum aufgenommen und dieses von den übrigen Spektren subtrahiert.



B29: Emissionsspektren von Aesculin und Cumarin im Vergleich

Obwohl Cumarin und Aesculin eine ähnliche Struktur aufweisen, fluoresziert Cumarin im Gegensatz zu Aesculin nicht. Erst bei der Einführung von Substituenten tritt eine bläuliche Fluoreszenz auf. Der einfachste dieser Stoffe ist Umbelliferon (7-Hydroxycumarin).

6-Hydroxycumarin soll auch fluoreszieren [17], dabei kommt es nach Anregung zu einem intramolekularen Charge-Transfer (ICT) von einer elektronenreichen Gruppe (wie Hydroxy- oder Methoxy-) am C-6 bzw. C-7-Atom zu einer Lacton-Carbonyl-Gruppe. Durch Einbringung von elektronenschiebenden Gruppen an der C-6- bzw. C-7-Position und elektronenziehenden Gruppen an der C-3-Position kann eine bathochrome Verschiebung des Emissionsspektrums erzeugt werden.

Rangaswami und Seshadri [18] beschreiben, dass eine ortho-ständige Methylgruppe zur Hydroxygruppe fluoreszenzlöschend wirkt. Eine zweite orthoständige Hydroxygruppe, wie im Aesculetin (6,7-Dihydroxycumarin) sorgt ebenfalls für eine Schwächung der Fluoreszenz [19].

Es kann angenommen werden, dass die Wasserstoffatome der so benachbarten Hydroxy-Gruppen bzw. der benachbarten Methylgruppe Wasserstoffbrückenbindungen zu den freien Elektronenpaaren der Hydroxygruppe aufbauen und so den elektronenschiebenden Effekt dieser Gruppe so weit senken, dass der für die Fluoreszenz nötige intramolekulare Charge-Transfer gehemmt und somit die Fluoreszenz geschwächt wird.

Dieser Zusammenhang erklärt auch die leicht erhöhte Fluoreszenz von 6,7-Dihydroxycumarin in wässriger Lösung bei $pH = 10$.

3.8. LICHTBESTÄNDIGKEIT VON AESCULIN

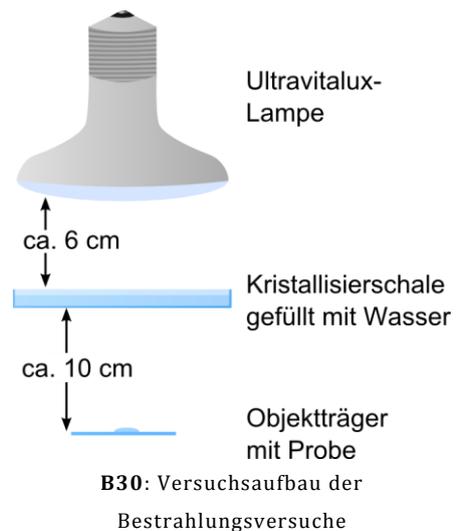
Lässt man eine wässrige Lösung aus Kastanienzweigextrakt oder Aesculin in der Sonne stehen, so ist nach einiger Zeit eine Abnahme der Fluoreszenzstärke zu beobachten. Es ist also davon auszugehen, dass Aesculin wenig lichtbeständig ist. Um diesen Sachverhalt näher zu untersuchen wurden mehrere Versuche durchgeführt.

3.8.1. LICHTBESTÄNDIGKEIT VON AESCULIN IN WASSER, VORVERSUCHE

Folgende Proben wurden untersucht:

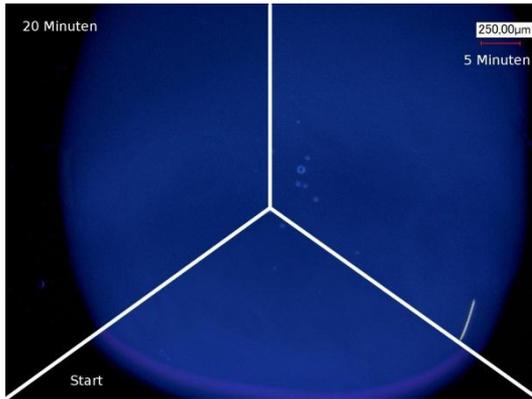
- Aesculin in Glycerin
- Aesculin in Wasser
- Aesculin, eingeschlossen in eine Stärkefolie und
- Aesculinpulver

Diese Proben wurden mit einer Ultravitalux-Lampe der Firma Osram, 300 W bestrahlt.

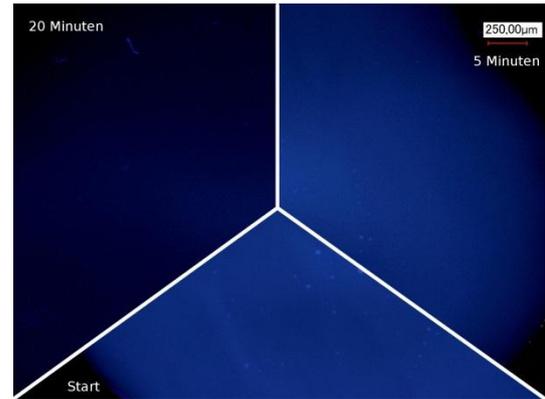


Damit die hohe Wärmeentwicklung der Lampe die Ergebnisse nicht beeinflusst, wurde eine etwa 1 cm hoch mit Wasser gefüllte Kristallisierschale, Durchmesser 12 cm, zwischen Lampe und Probe gestellt. Der Abstand zwischen Lampe und Kristallisierschale betrug etwa 6 cm, der zwischen Kristallisierschale und dem Objektträger mit der Probe ca. 10 cm.

Es wurde jeweils eine Referenzprobe der gleichen Zusammensetzung während der Bestrahlungsdauer im Dunkeln aufbewahrt. Die Proben wurden unter dem Mikroskop bei Bestrahlung mit UV-Licht untersucht.

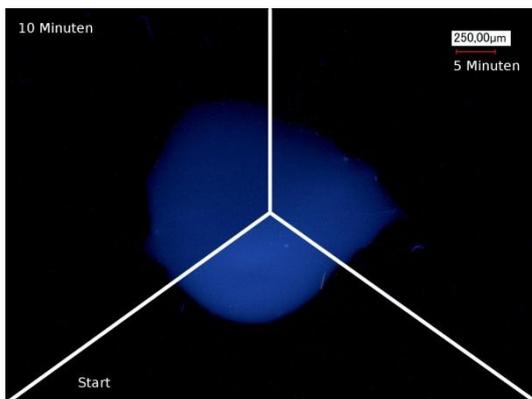


B31: Aesculin in Glycerin zu Beginn, nach 5 und nach 20 Minuten im Dunkeln

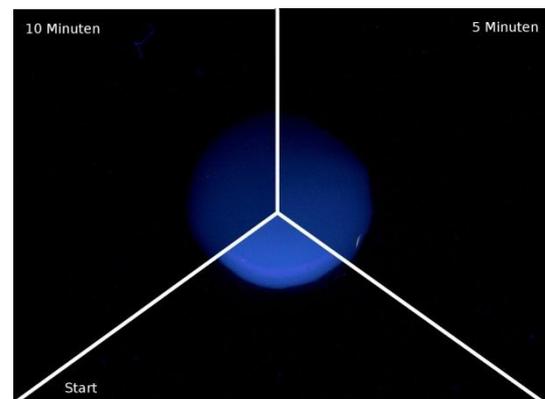


B32: Aesculin in Glycerin zu Beginn nach 5 und nach 20 Minuten unter Bestrahlung

Nach 20 Minuten unter Bestrahlung ist eine deutliche Abnahme der Fluoreszenzstärke von Aesculin in Glycerin zu beobachten (**B32** Bestrahlte Probe, **B31** Referenz).

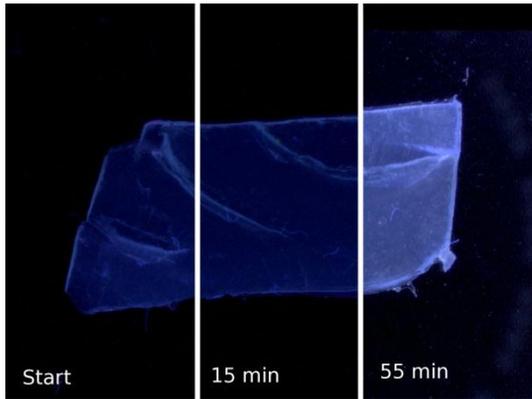


B33: Aesculin in Wasser zu Beginn, nach 5 und nach 10 Minuten im Dunkeln

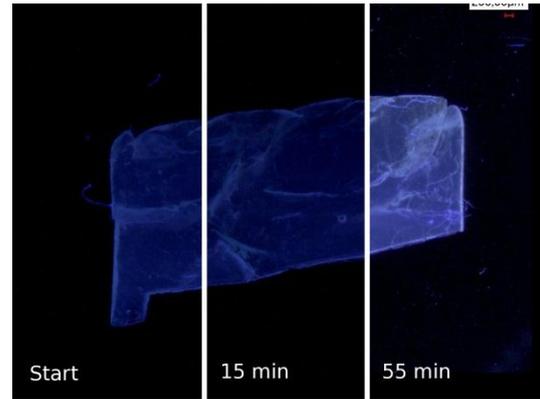


B34: Aesculin in Wasser zu Beginn, nach 5 und nach 10 Minuten unter Bestrahlung

Aesculin in Wasser zeigt bereits nach 10 Minuten eine gut sichtbare Abnahme der Fluoreszenzstärke.



B35: Aesculin in Stärkefolie zu Beginn, nach 15 und nach 55 Minuten im Dunkeln



B36: Aesculin in Stärkefolie zu Beginn, nach 15 und nach 55 Minuten unter Bestrahlung

Aesculin eingebettet in eine gut durchgetrocknete, nicht mehr klebende Stärkefolie (vgl. Abschnitt 3.10. *Herstellung einer Aesculin-Stärkefolie*) zeigt nach knapp einer Stunde keine sichtbare Abnahme der Fluoreszenz. Die hier sichtbare Zunahme der Helligkeit nach 55 Minuten kommt durch verändertes Umgebungslicht zustande.

Bestrahlt man Aesculin in Pulverform so ist nach 4 Stunden eine schwache Abnahme der Fluoreszenz zu beobachten (vgl. **B37**).



B37: Aesculin nach 4 Stunden im Dunkeln (links) und nach 4 Stunden unter Bestrahlung (rechts)

Ob diese Instabilität generell vorliegt oder mit auftretender Luftfeuchtigkeit zu tun hat, muss noch näher untersucht werden. Dies ist nicht Gegenstand dieser Arbeit.

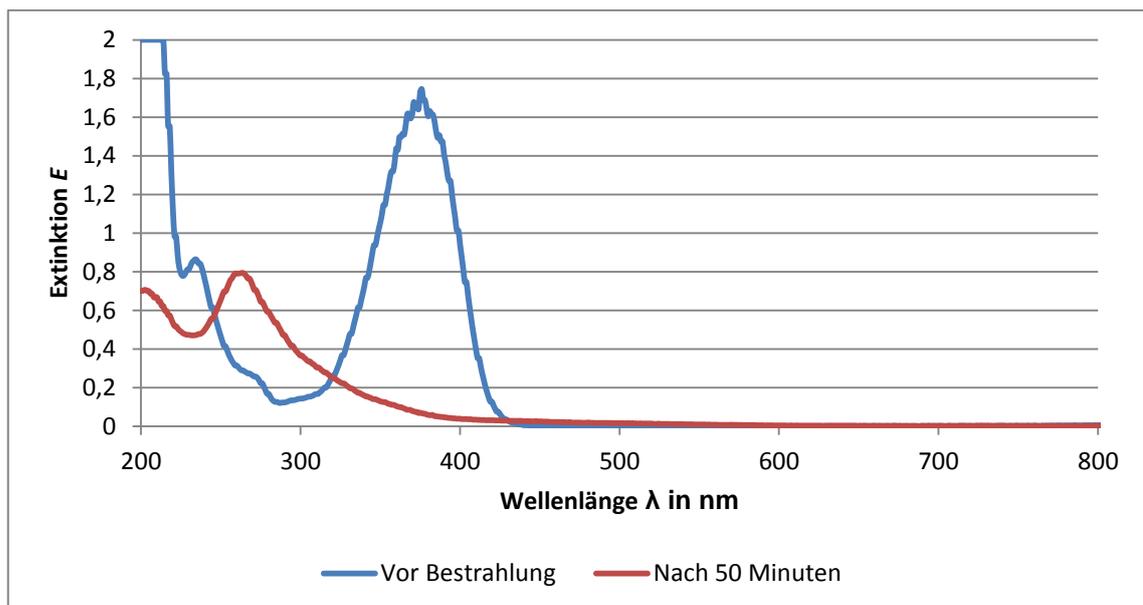
3.8.2. LICHTBESTÄNDIGKEIT VON AESCULIN IN WASSER, pH =7

Bei allen folgenden Versuchen wurde jeweils zuerst der pH-Wert der wässrigen Lösung eingestellt, in der anschließend das Aesculin gelöst wurde.

Zur Bestimmung der Lichtbeständigkeit von Aesculin in Wasser wurden Absorptionsspektren aufgenommen. Da das LAMBERT-BEERSche Gesetz $E = \epsilon \cdot c \cdot d$ gilt, und der Koeffizient ϵ sowie die Schichtdicke d konstant sind erlauben die Spektren einen direkten Rückschluss auf die Änderung der Aesculin-Konzentration und damit auf die Lichtbeständigkeit.

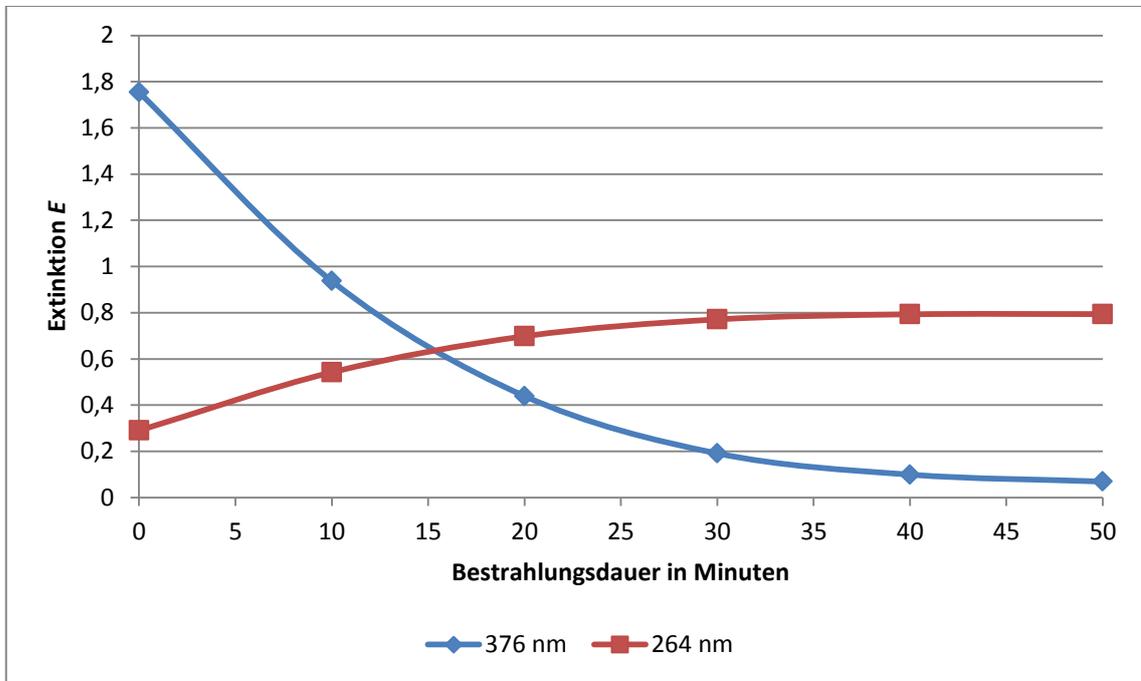
Die Spektren wurden mit einem *WPA Biowave S2100 Diode Array Spectrophotometer* aufgenommen, das zur Aufnahme der Daten an einen Computer angeschlossen wurde. Die Extinktionsdaten wurden anschließend zur Auswertung in eine Tabellenkalkulation übertragen. Bei jeder Aufnahme wurde zuvor eine Referenz des Lösemittelspektrums aufgenommen, dessen Daten vom Spektrometer automatisch von allen weiteren Spektren abgezogen werden.

Es wurde eine Lösung von 2 mg Aesculin in 100 mL Wasser hergestellt. Der pH-Wert des Wassers wurde mit Universalindikatorstreifen der Firma Merck bestimmt. Die Probe wurde für 50 Minuten bestrahlt und alle 10 Minuten ein Spektrum aufgenommen.



B38: Absorptionsspektrum von Aesculin in Wasser, pH = 7, vor und nach Bestrahlung

Vor der Bestrahlung lag das Absorptionsmaximum bei $\lambda = 376 \text{ nm}$ ($E = 1,745$). Nach 50-minütiger Bestrahlung ist ein Peak bei $\lambda = 264 \text{ nm}$ ($E = 0,794$) zu beobachten. Man kann also davon ausgehen, dass eine unbekannte Spezies X aufgebaut wird.



B39: Verlauf der Extinktionen von Aesculin und X bei $\text{pH} = 7$

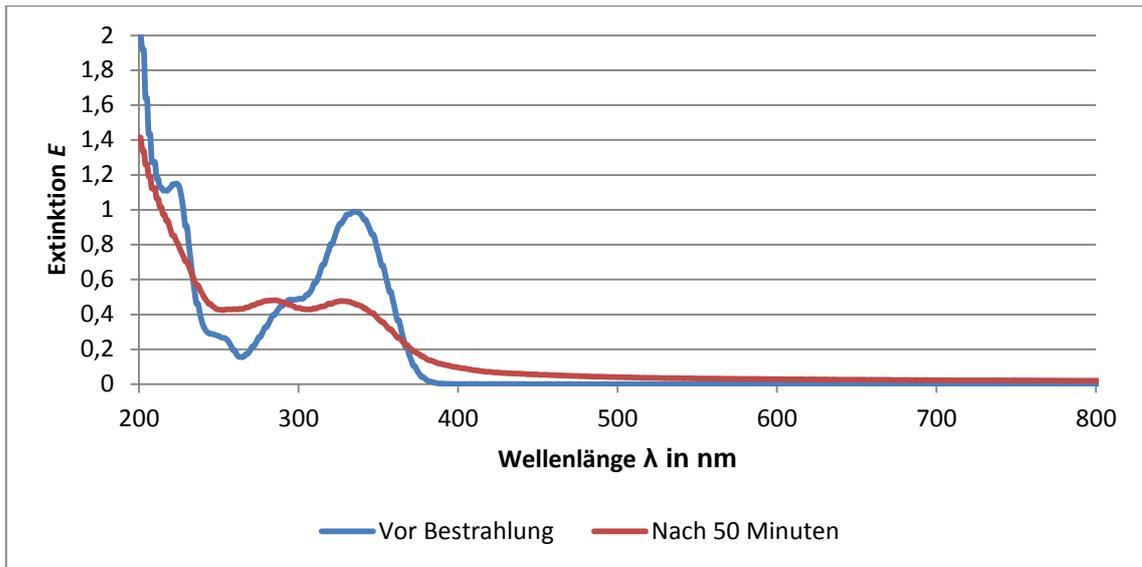
Außerdem sank nach 50-minütiger Bestrahlung die Extinktion bei $\lambda = 376 \text{ nm}$ auf $E = 0,069$. Mit $E_1 = \epsilon \cdot c_1 \cdot d$ und $E_2 = \epsilon \cdot c_2 \cdot d$ kann berechnet werden, dass die Konzentration von Aesculin auf das ca. 0,04-fache der Anfangskonzentration gesunken ist.

3.8.3. LICHTBESTÄNDIGKEIT VON AESCULIN IN WASSER, $\text{pH} = 3$

Zur Herstellung der einer Aesculin-Lösung mit $\text{pH} = 3$, wurde der pH -Wert einer Wasser Probe mit Hilfe von etwas Salzsäure auf $\text{pH} = 3$ eingestellt. Der pH -Wert wurde mit einem Universalindikatorstreifen überprüft. Anschließend wurden ca. 2 mg Aesculin in 100 mL dieser Lösung gelöst. Die Spektren wurden in Intervallen von 10 Minuten über 50 Minuten aufgenommen.

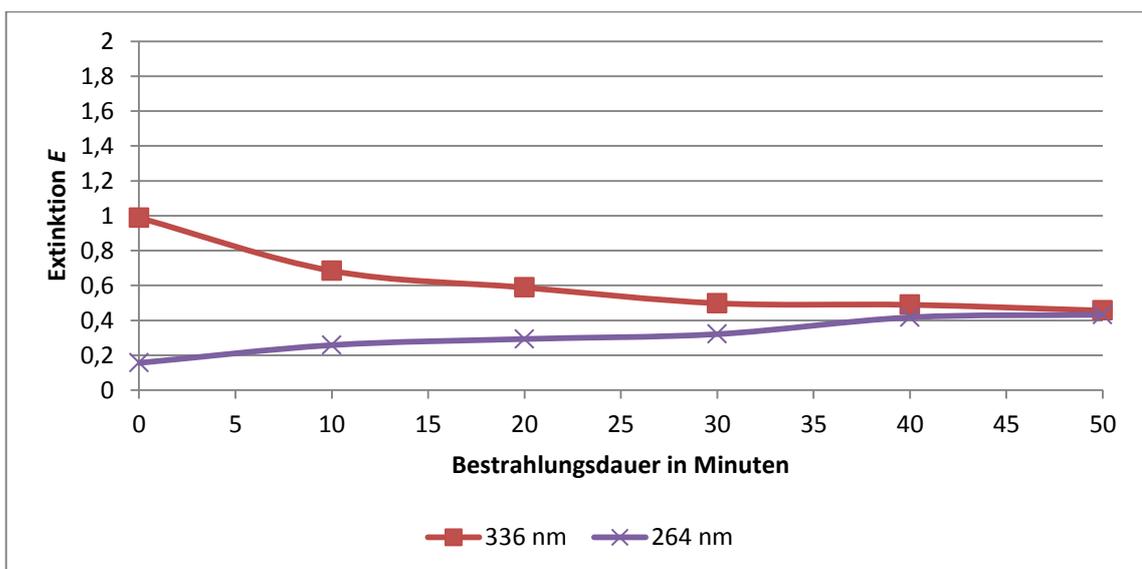
Zu beobachten ist, dass das Absorptionsmaximum des Aesculins im Vergleich zum neutralen um 40 nm hypsochrom verschoben wurde (vgl. **B40**). Dies ist durch die Abspaltung eines Protons im neutralen zu erklären, zu der es im Sauren nicht kommt ($pK_s(\text{Aesculin}) = 6,56$ [13]).

Die Extinktion des Aesculins ist nach 50-minütiger Bestrahlung von $E_1 = 0,988$ auf $E_2 = 0,456$ gesunken. Dies entspricht in etwa einer Halbierung.



B40: Absorptionsspektrum von Aesculin in Wasser, pH = 3, vor und nach Bestrahlung

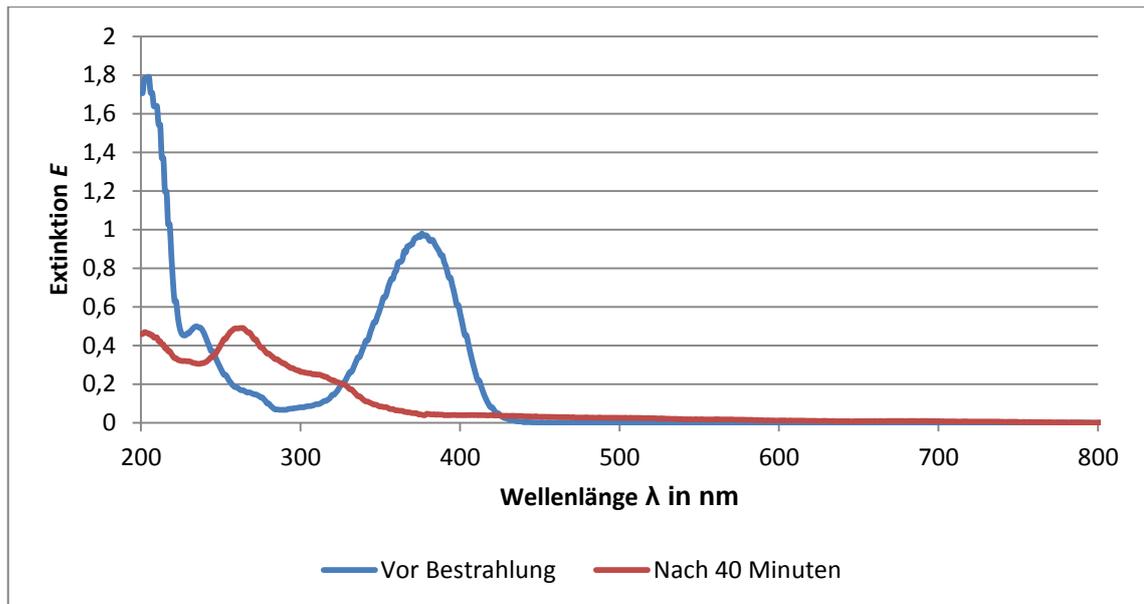
Betrachtet man den zeitlichen Verlauf der Extinktion bei $\lambda = 336$ nm und bei $\lambda = 264$ nm, so ändern sich die Konzentration nur schwach.



B41: Verlauf der Extinktionen von Aesculin und X bei pH = 3

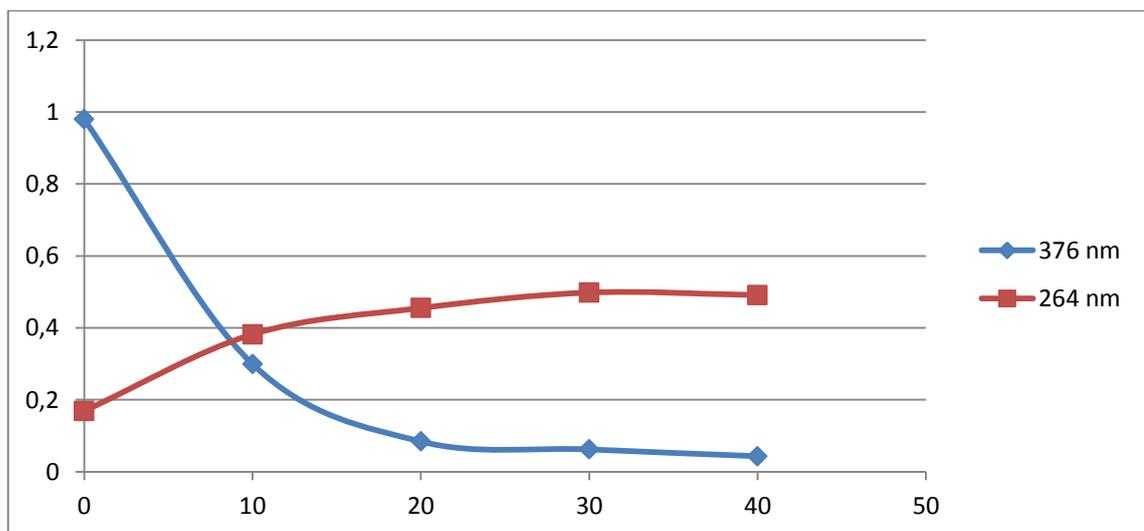
3.8.4. LICHTBESTÄNDIGKEIT VON AESCULIN IN WASSER, $pH = 9$

Zur Bestimmung der Lichtbeständigkeit von Aesculin wurden 2 mg Aesculin in 100 mL Wasser, $pH = 9$ gelöst. Die Einstellung des Wassers auf $pH = 9$ erfolgte durch Zugabe von festem Natriumhydroxid bevor das Aesculin darin gelöst wurde, die Bestimmung des pH -Wertes erfolgte mittels Universalindikatorstreifen. Die Spektren wurden im Abstand von 10 Minuten über 40 Minuten lang aufgenommen.



B42: Absorptionsspektrum von Aesculin in Wasser, $pH = 9$, vor und nach Bestrahlung

Betrachtet man die Messwerte über die Zeit, so ist bereits nach 20 Minuten die Extinktion bei $\lambda = 376$ nm auf einen Bruchteil gesunken.

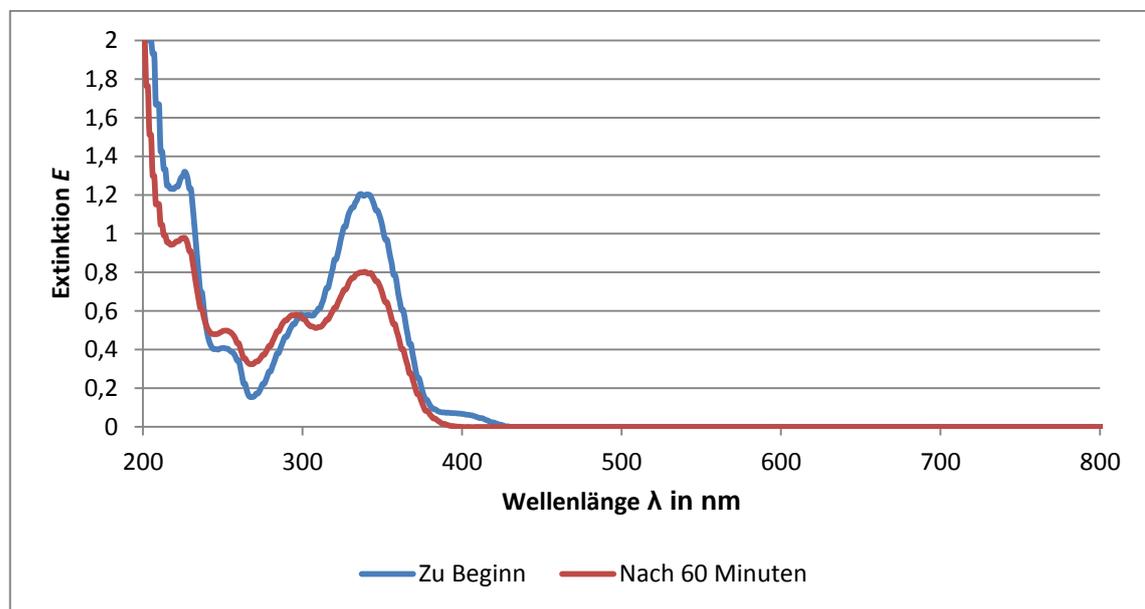


B43: Verlauf der Extinktionen von Aesculin und X bei $pH = 9$

Die Extinktion bei $\lambda = 376 \text{ nm}$ betrug zu Beginn der Bestrahlung $E_1 = 0,98$, nach 40 Minuten ist sie auf $E_2 = 0,043$ gesunken. Dies entspricht in etwa einer Abnahme der Konzentration des Aesculins auf das 0,05-fache der Anfangskonzentration.

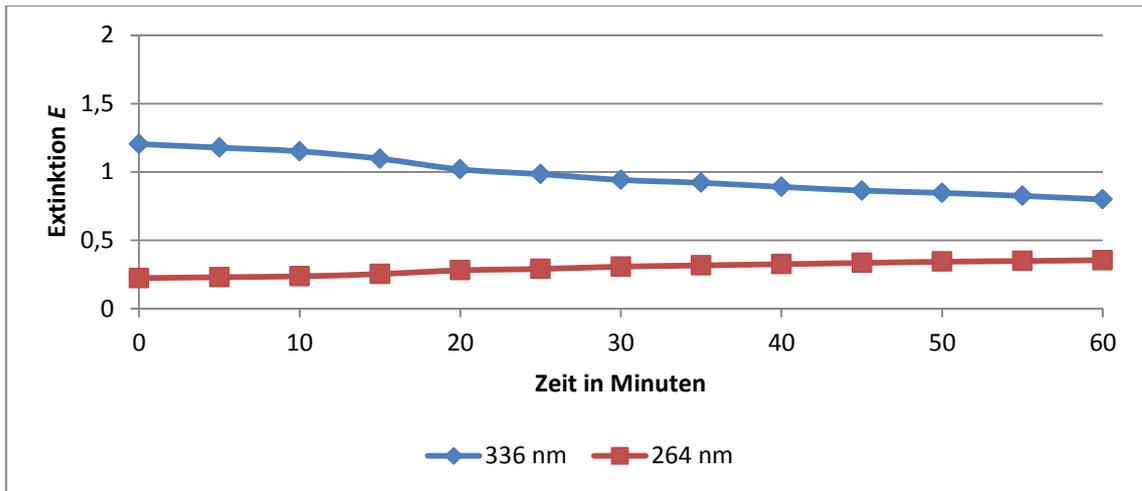
3.8.5. LICHTBESTÄNDIGKEIT VON AESCULIN IN ISOPROPANOL

In 100 mL Isopropanol wurden ca. 2 mg Aesculin gelöst. Es wurden Spektren im Abstand von 5 Minuten insgesamt 60 Minuten lang aufgenommen.



B44: Absorptionsspektren von Aesculin in Isopropanol vor und nach 60 Minuten unter Bestrahlung

Es zeigt sich eine schwache Abnahme der Extinktion bei $\lambda = 336 \text{ nm}$, sowie eine schwache Zunahme der Extinktion bei $\lambda = 264 \text{ nm}$. Da der Absorptionspeak des Aesculins in Isopropanol bei $\lambda = 336 \text{ nm}$ liegt, ist davon auszugehen, dass das in Abschnitt 2.4. *Säure-Base-Verhalten* beschriebene Protolysegleichgewicht in Wasser vorliegt, in einem pH-neutralen Lösemittel, wie Isopropanol jedoch nicht.

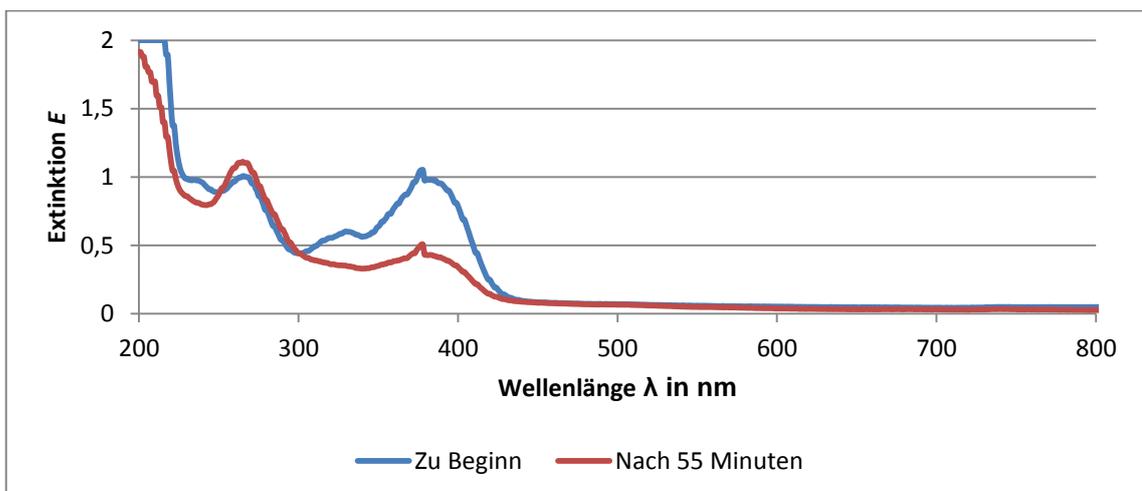


B45: Zeitlicher Verlauf der Extinktion von Aesculin und X in Isopropanol

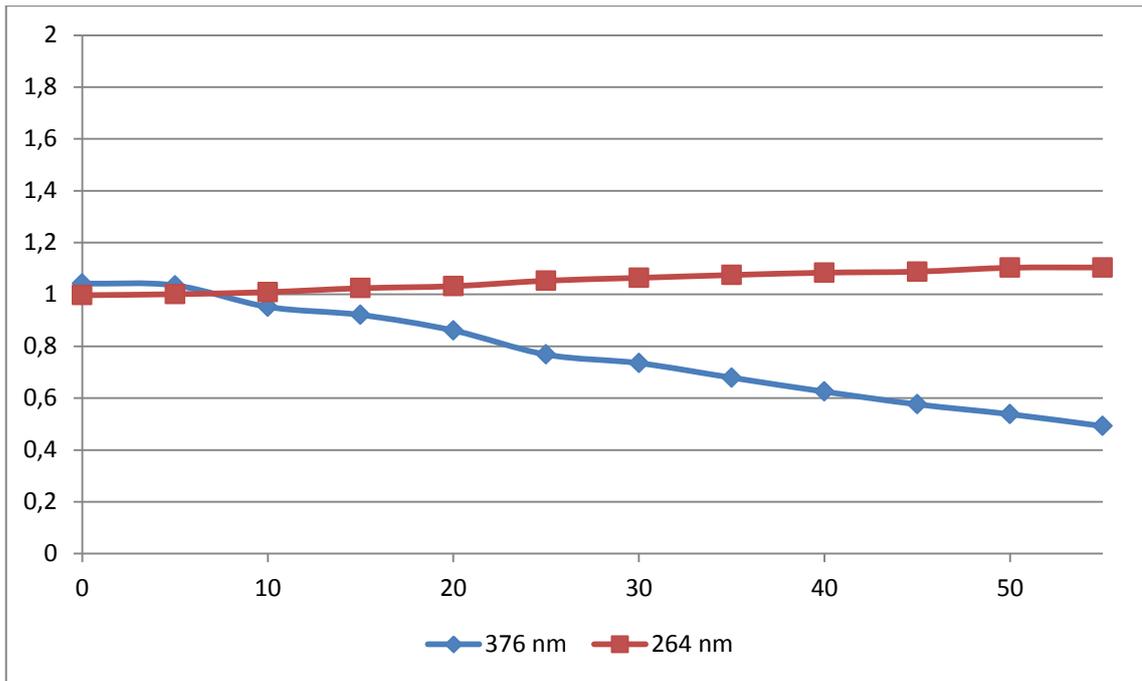
3.8.5. LICHTBESTÄNDIGKEIT VON AESCULIN IN ISOPROPANOL/WASSER, pH = 9

Es wurde eine Mischung aus 50 mL Wasser, pH = 9 und 50 mL Propan-2-ol hergestellt. Nach Aufnahme einer Referenzprobe, wurden ca. 2 mg Aesculin in dieser Mischung gelöst. Die Aufnahme der Spektren erfolgte im Abstand von 5 Minuten. Der Versuch wurde nach 55 Minuten beendet.

Betrachtet man die Extinktion bei der Wellenlänge $\lambda = 376 \text{ nm}$ über die Zeit, so ist bei der Extinktion eine Abnahme auf die Hälfte zu erkennen. Die schwache Zunahme der Extinktion bei $\lambda = 264 \text{ nm}$ spricht zwar dafür, dass sich auch Stoff X gebildet hat, jedoch in einem geringeren Maße als nur in Wasser.



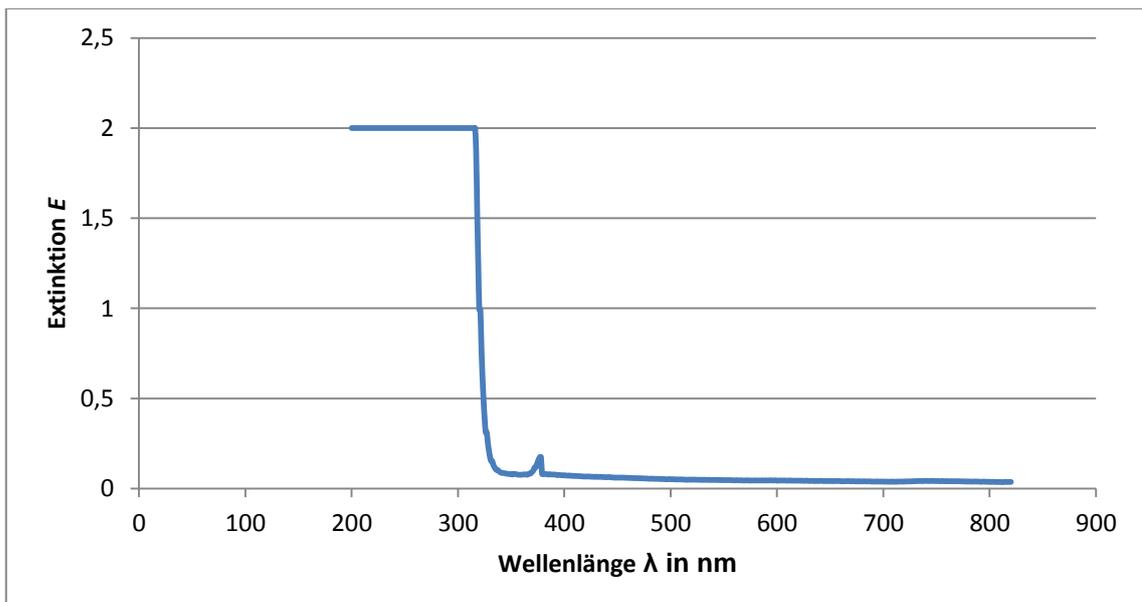
B46: Absorptionsspektren von Aesculin in einem Isopropanol/Wasser-Gemisch vor und nach 55 Minuten unter Bestrahlung



B47: Verlauf der Extinktionen von Aesculin und X in Isopropanol/Wasser

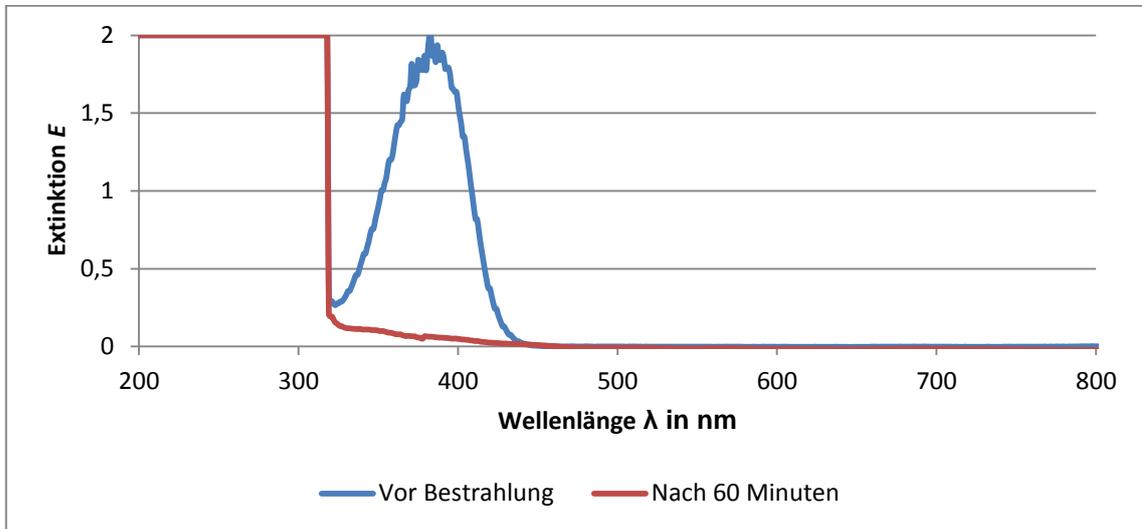
3.8.6. LICHTBESTÄNDIGKEIT VON AESCULIN IN ACETON/WASSER, pH=9

Es wurde eine Mischung aus je 50 mL Aceton und 50 mL Wasser, $pH = 9$, hergestellt. Das Referenz-Absorptionsspektrum dieser Lösung zeigt, dass Aceton im UV-Bereich des elektromagnetischen Spektrums absorbiert:

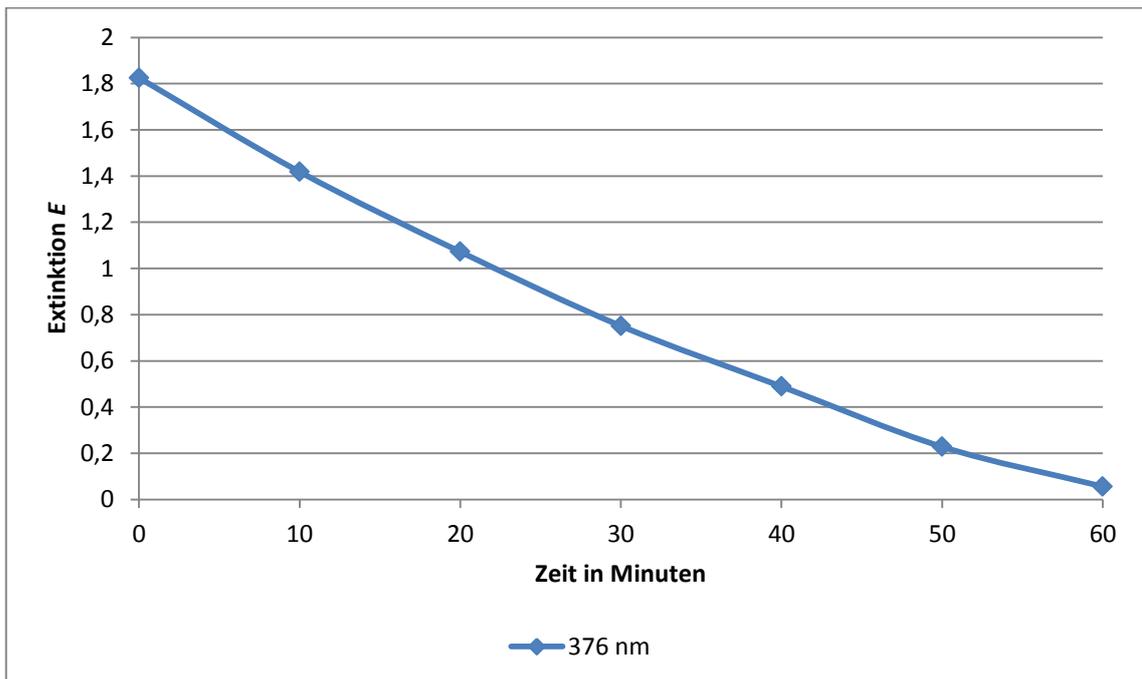


B48: Absorptionsspektrum von Aceton/Wasser

Aus diesem Grund sind Betrachtungen der Extinktion der Wellenlänge $\lambda = 264 \text{ nm}$ nicht möglich. Die folgenden Spektren wurden im Abstand von 10 Minuten über einen Zeitraum von 60 Minuten aufgenommen.

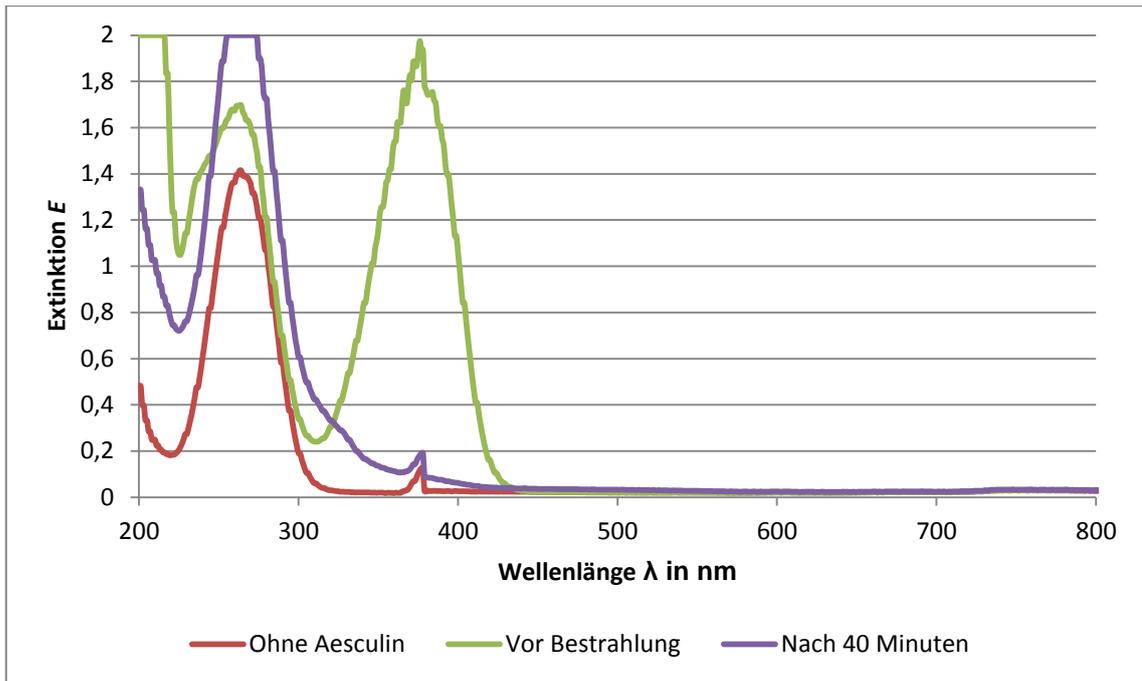


B49: Absorptionsspektren von Aesculin in Aceton/Wasser, pH = 9



B50: Zeitlicher Verlauf der Extinktion von Aesculin in Aceton/Wasser, pH = 9

Dieser Versuch wurde mit einer Mischung aus 100 mL Wasser, pH = 9 und 0,5 mL Aceton wiederholt, um den Verlauf der Extinktion des Acetons verfolgen zu können. Die Spektren wurden im Abstand von 10 Minuten für 40 Minuten aufgenommen.



B51: Absorptionsspektren Aesculin, Wasser/Aceton 200:1, pH = 9

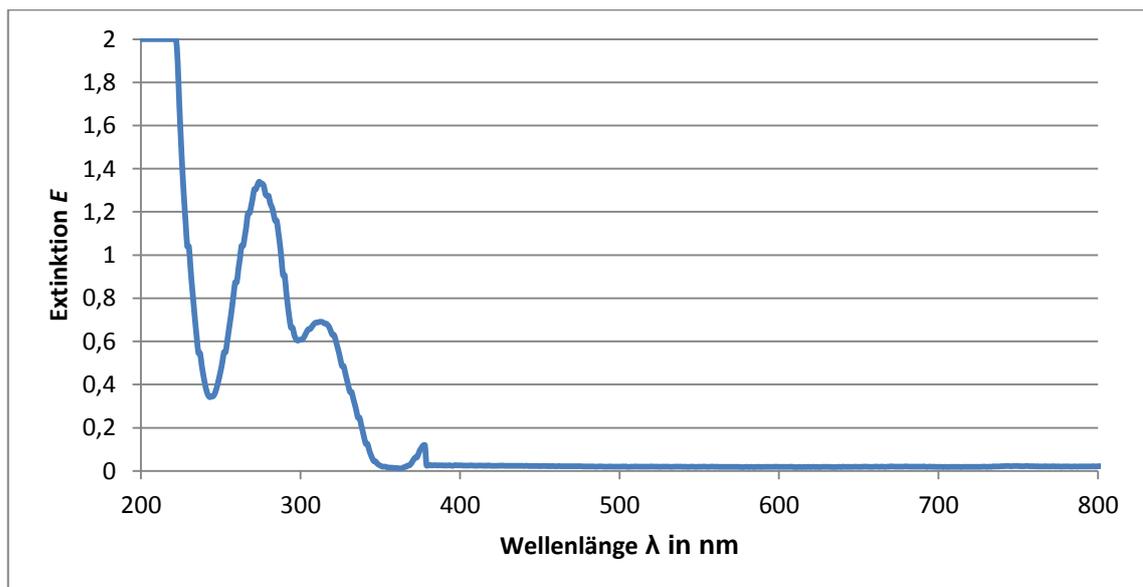
Es ist deutlich zu erkennen, dass der Absorptionspeak bei $\lambda = 264$ nm zum einen mit der Zugabe von Aesculin zunimmt, zum anderen jedoch auch nach längerer Bestrahlung. Die Zunahme ist durch Bildung der Spezies X zu erklären. Würde jedoch Aceton im gleichen Maße abgebaut wie eine Spezies Y aufgebaut, würde die Zunahme der Absorption bei $\lambda = 264$ nm schwächer ausfallen oder es könnte sogar zu einem Abfall kommen.

Ein Vergleich der Absorption bei $\lambda = 376$ nm über die Zeit mit der von Aesculin in Wasser, pH = 9, zeigt, dass der Aesculinabbau sogar langsamer von statten geht. Dies ist dadurch zu erklären, dass Aceton einen Teil des UV-Lichts absorbiert. Dadurch sinkt die Zahl der Aesculin-Moleküle im angeregten Zustand und der photochemische Abbau geht dadurch deutlich langsamer von statten.

3.8.7. AUSWERTUNG DER VERSUCHE ZUR LICHTBESTÄNDIGKEIT

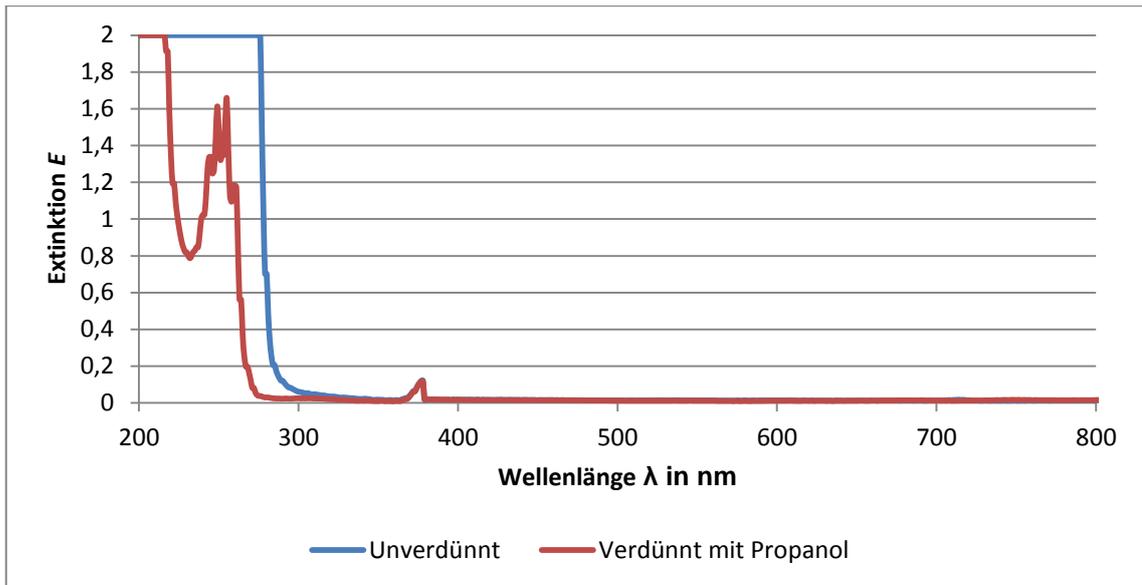
Bei den beschriebenen Versuchen ist eine Fluoreszenzlöschung des Aesculins zu beobachten, die je nach umgebender Matrix sehr langsam oder schnell abläuft.

Es ist naheliegend von einer Hydrolysierung des Aesculins zu 6,7-Dihydroxycumarin auszugehen, da letzteres nur schwach fluoresziert [19]. Die aufgenommenen Absorptionsspektren sprechen jedoch dagegen, dass diese Hydrolysierung der Hauptgrund für die beobachtete Fluoreszenzlöschung ist: Aesculin absorbiert in einem ähnlichen Wellenlängenbereich wie Cumarin, daher kann davon ausgegangen werden, dass auch 6,7-Dihydroxycumarin im Bereich von $300 \text{ nm} < \lambda < 400 \text{ nm}$ absorbieren sollte. Diese Annahme wird durch die Literatur [19] unterstützt.



B52: Absorptionsspektrum von Cumarin, 3 mg in 200 mL Propan-1-ol

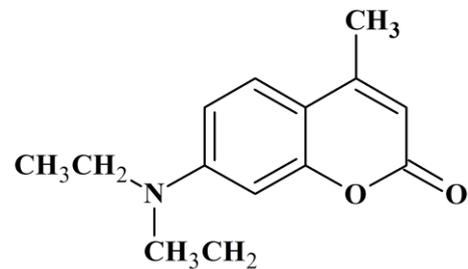
Es ist also davon auszugehen, dass es zu einer größeren Strukturveränderung kommt. Grund für diese Annahme ist der neu entstandene Stoff, der bei $\lambda = 264 \text{ nm}$ absorbiert. Vergleicht man dies mit dem Absorptionsmaximums des Benzols, welches bei $\lambda = 255 \text{ nm}$ (vgl. B53) liegt, so kann angenommen werden, dass es zu einer Pinakolisierung gekommen ist, die das delokalisierte π -Elektronensystem des Aesculins verkürzt, wie von Tausch und Balzer vorgeschlagen [10].



B53: Absorptionsspektrum Benzol, Verdünnung: 1 Tropfen auf 25 mL Propan-1-ol

MÖGLICHER MECHANISMUS: PINAKOLISIERUNG

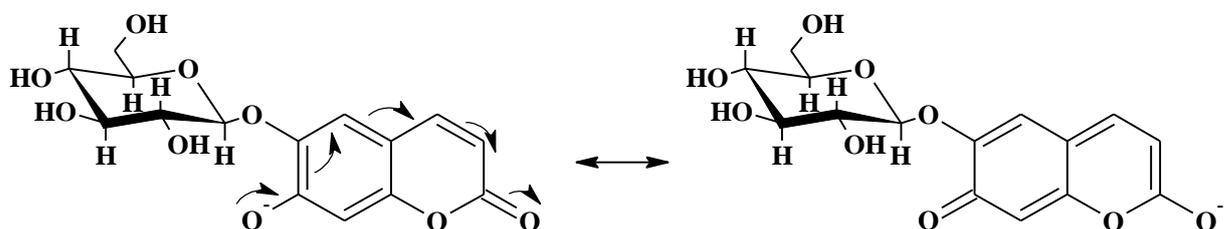
Tausch und Balzer [10] haben die Lichtbeständigkeit des Aesculins mit der von 7-Diethyl-4-methylcumarin verglichen und kamen durch die beobachteten Ergebnisse (Photochemischer Abbau von Aesculin, Photobeständigkeit von 7-Diethylamino-4-methylcumarin, jeweils nach 15 Minuten unter Bestrahlung) zur Vermutung, dass eine Pinakolisierung stattfindet.



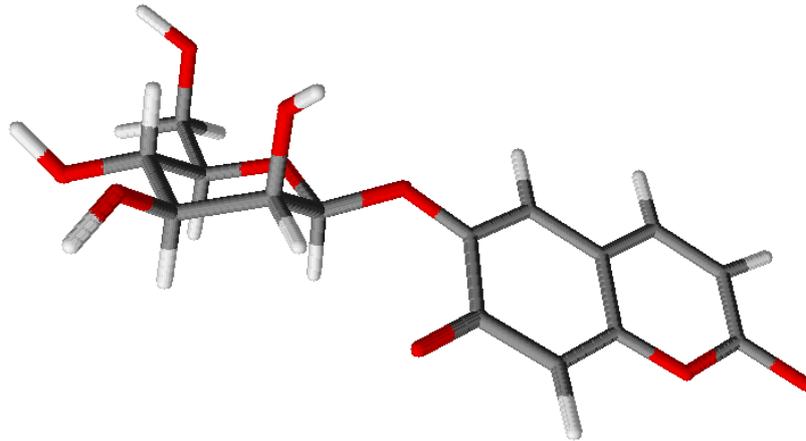
B54: 7-Diethylamino-4-methylcumarin

Aus den weiter oben vorgestellten Versuchsergebnissen (vgl. *Abschnitte 3.8.2. Lichtbeständigkeit von Aesculin in Wasser, pH = 7* bis *3.8.4. Lichtbeständigkeit von Aesculin in Wasser, pH = 9*) geht hervor, dass Aesculin in leicht alkalischem Medium schneller zerstört wird, als in neutralem oder saurem Medium. In der Literatur [20] findet man außerdem die Angabe, dass der erste Schritt für den lichtgetriebenen Abbau von Hydroxycumarinen die Deprotonierung darstellt. Dies funktioniert, nach Anregung mit UV-Licht sogar in aprotischen Lösungsmitteln, die dann als LEWIS-Base reagieren. Womöglich kommt es bei Hydroxycumarinen dann anschließend zu einer intermolekularen Pinakolisierung, welche bereits an anderer Stelle postuliert wird [10].

Betrachtet man die deprotonierte Form des Aesculins, so finden sich zwei interessante mesomere Grenzstrukturen:

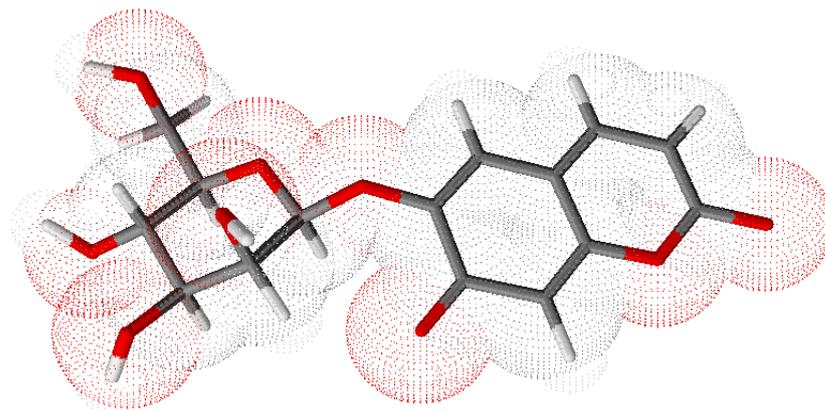


Die Ketogruppe am C-2-Atom kann mit der deprotonierten Hydroxygruppe am C-7-Atom den Platz tauschen und ist dadurch dem Zuckerrest näher. Einige Aesculin-Moleküle können auch direkt mit einer Hydroxygruppe am C-2-Atom und einer Keto-Gruppe am C-7-Atom vorliegen.



B55: Struktur eines Aesculin-Ions

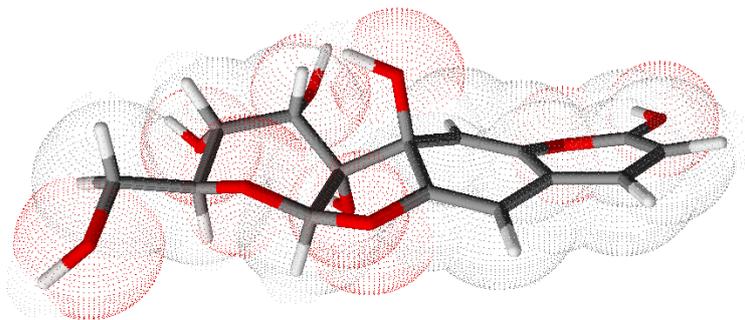
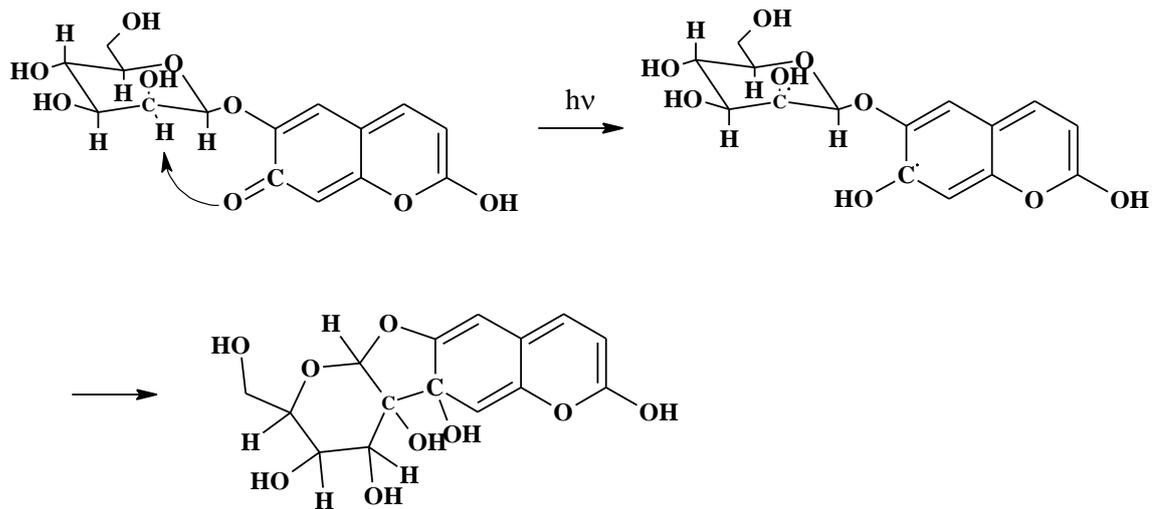
Betrachtet man die dreidimensionale Anordnung der Atome, so ist leicht zu erkennen, dass das Coumarin-Grundgerüst flach ist, der Zuckerrest jedoch alles andere als zweidimensional ist. Er liegt meist in der energetisch günstigen Sesselkonformation vor. Der Coumarin-Teil des Moleküls ist, dank seines π -Elektronensystems starr. Der β -D-Glucose-Rest ist hingegen frei beweglich – eine Drehung um die Kohlenstoff-Sauerstoff-Bindung am C-6-Atom des Coumarins kann die Keto-Gruppe am C-7-Atom mit einem sekundären Alkohol des β -D-Glucose-Rests zusammen bringen (vgl. **B56**).



B56: Aesculin-Ion nach Drehung um C-O-Bindung mit eingezeichneten VAN-DER-WAALS-Radien

Die Bildung einer intramolekularen Wasserstoffbrückenbindung ist vermutlich der erste Schritt zur Pinakolisierung. Aktuelle Forschungsergebnisse zeigen, dass Wasserstoffbrückenbindungen einer $C=O \cdots H-O$ – Bindung im angeregten Zustand

stärker ausgeprägt sind als im Grundzustand, diese Bindung wird kürzer, die Bindungsenergie steigt, während die der C=O und der H-O-Bindung länger werden [21]. Es ist also möglich, dass nach Anregung mit UV-Licht, beim anschließenden Übergang in den Grundzustand eine intramolekulare Wasserstoffatom-Abstraktion stattfindet. Das so entstehende Diradikal sorgt für einen Ringschluss, der das delokalisierte π -Elektronensystem verkleinert.

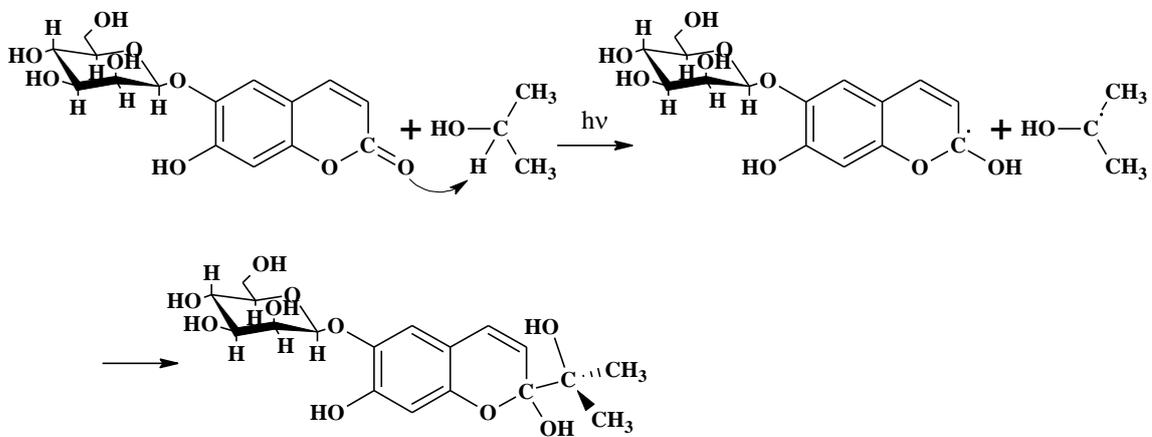


B57: 3D-Ansicht des möglichen Produkts

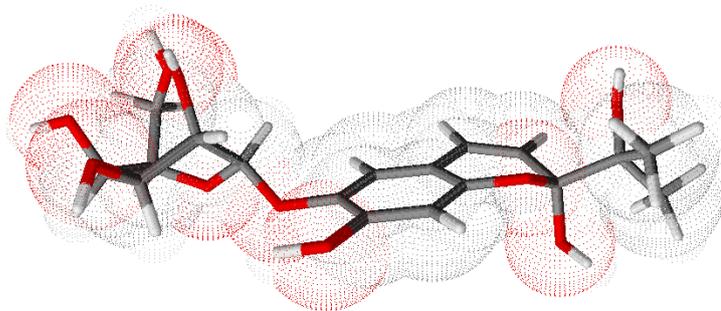
Diese Änderung verschiebt die Absorption des elektromagnetischen Spektrums hypsochrom und löscht die Fluoreszenz. (Betrachtungen der Wannen- bzw. Twist-Konfigurationen des Sechserings des β -D-Glucose-Rests entfallen, da diese im Vergleich zur Sesselkonfiguration sehr selten eingenommen werden).

Die fallende Lichtbeständigkeit kann mit der Zunahme dieser Reaktionsart erklärt werden, da durch den steigenden *pH*-Wert die mesomere Grenzstruktur mit der Ketogruppe am C-7-Atom häufiger vorkommt als im neutralen oder sauren Medium.

Betrachtet man Isopropanol als Lösemittel, so findet mit der Zeit ebenfalls ein kontinuierlicher, aber langsamerer Abbau des Aesculins statt (vgl. Abschnitt 3.8.5. *Lichtbeständigkeit von Aesculin in Isopropanol*). Es ist anzunehmen, dass auch hier eine Pinakolisierung stattfindet, jedoch intermolekular statt intramolekular.



Beim Produkt ist das delokalisierte π -Elektronensystem ebenfalls verkürzt, eine hypsochrome Verschiebung des Absorptionsspektrums und der Wegfall der Fluoreszenz sind die Folge.



B58: Mögliches Produkt einer Pinakolisierung von Aesculin und Propan-2-ol

Die Bevorzugung der intramolekularen Pinakolisierung kann auf die benachbarten Hydroxygruppen der sekundären Alkoholgruppe zurückgeführt werden, die durch ihren -I-Effekt die Abstraktion eines Wasserstoffatoms begünstigen.

Demnach müsste der Abbau in Glycerin schneller von statten gehen als in Propan-2-ol – dies sollte aus dem gut sichtbaren Abbau in Glycerin bei den Vorversuchen hervorgehen, vgl. Abschnitt 3.8.1. *Lichtbeständigkeit von Aesculin in Wasser, Vorversuche*. Diese Versuche wurden wegen der hohen Viskosität des wasserfreien Glycerins nicht genauer durchgeführt, da die Viskosität, wegen der verringerten Bewegungsfreiheit der Teilchen, die Ergebnisse beeinflussen könnte.

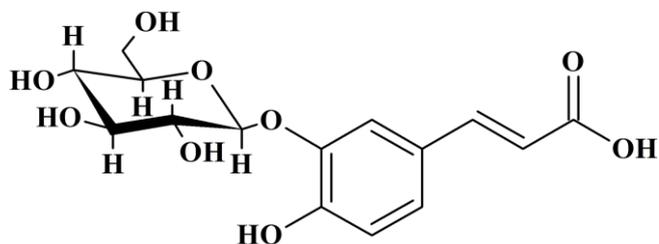
Zur Überprüfung dieser Hypothese müsste das Produkt isoliert und anschließend NMR-Spektren aufgenommen werden, was den Rahmen dieser Arbeit jedoch sprengen würde.

WEITERE ÜBERLEGUNGEN: BILDUNG EINER CARBONSÄURE

Rangaswami und Seshadri schlagen als Ursache für den Verlust der Fluoreszenz von Hydroxycumarinen im alkalischen die Bildung der entsprechenden Carbonsäure vor [18]. Da sich hierbei ein Molekül mit einem Phenol-Baustein bildet, stimmt dies auch mit der Beobachtung des verschobenen Absorptionsspektrums überein (vgl. Abschnitt 3.8.7. *Auswertung Der Versuche zur Lichtbeständigkeit*).

Im alkalischen Bereich käme es dadurch mit der Zeit zu einer Senkung des pH-Werts. Die Bildung dieser Säure würde auf einer Redoxreaktion beruhen, da das C-6-Atom im Produkt reduziert werden muss. Aufgrund der in Abschnitt 3.9. *Antioxidative Wirkung von Aesculin* beobachteten Reduktionswirkung des Aesculins ist diese intermolekulare Wechselwirkung nicht auszuschließen.

Eine Senkung des pH-Wertes erfolgt jedoch auch bei Hydrolyse von Aesculin zu Aesculetin, da dieses einen pK_s -Wert von 5,62 besitzt [13].

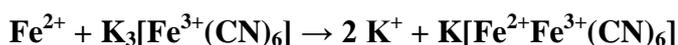


B59: Mögliches Produkt nach Fluoreszenzlöschung des Aesculins im alkalischen

Auch hier könnte erst eine Trennung aller Reaktionsprodukte mit anschließender Aufnahme der NMR-Spektren Klarheit verschaffen.

3.9. ANTIOXIDATIVE WIRKUNG VON AESCULIN

In einem Reagenzglas wurde eine Lösung aus wenigen Milligramm Eisen(III)-chlorid und Kaliumhexacyanoferrat(III) hergestellt. Anschließend wurden ca. 2 mg Aesculin ($\geq 98\%$) hinzugegeben. Nach Zugabe des Aesculins färbt sich die zuvor gelbliche Lösung blau. Die Blaufärbung der Lösung kann auf die Bildung von Eisen(II)-Ionen zurück-geführt werden, die mit dem Kaliumhexacyanoferrat(III) einen blauen Komplex, das sogenannte BERLINER BLAU bilden.



Es ist also anzunehmen, dass Eisen(III)-Ionen durch Aesculin-Moleküle zu Eisen(II)-Ionen reduziert werden. Es muss daher eine Oxidation beim Aesculin stattgefunden haben.

Gibt man Aesculin zu einer Lösung aus Eisen(III)-chlorid, so ist eine Löschung der Fluoreszenz zu beobachten. Betrachtet man die Strukturformel eines Aesculin-Moleküls, so liegt die Vermutung nahe, dass Aesculin zu Glucose und 6,7-Dihydroxycumarin hydrolysiert, die anschließende Reduktion geschieht dann durch die Glucose. Gibt man jedoch nur Glucose zu einer Lösung aus Eisen(III)-chlorid und Kaliumhexacyanoferrat(III), kommt es erst nach Erhitzen zu einer Blaufärbung und nicht, wie bei Aesculin, schon bei Raumtemperatur. Dies schließt eine Reaktion der Glucose mit den Eisen(III)-Ionen aus.

Bei der Zugabe von Cumarin zu einer Lösung aus Eisen(III)-chlorid und Kaliumhexacyano-ferrat(III), kommt es selbst nach Erhitzen zu keiner Blaufärbung. Dadurch ist auch eine Reaktion des Cumarin-Grundgerüsts mit Eisen(III)-Ionen ausgeschlossen.

Es ist also anzunehmen, dass die Hydroxygruppe am C-7-Atom des Aesculins für die reduzierende Wirkung verantwortlich ist. In der Literatur [21] findet man sehr gute reduzierende Eigenschaften für 6,7-Dihydroxycumarin (Aesculetin). Eine Möglichkeit ist also, dass Aesculin zu Aesculetin und Glucose hydrolysiert und die Eisen(III)-Ionen vom Aesculetin reduziert werden. Genauere Untersuchungen konnten, da weder 6,7-Dihydroxycumarin noch 7-Hydroxycumarin vorlagen, nicht durchgeführt werden.

3.10. HERSTELLUNG EINER AESCULIN-STÄRKEFOLIE

In ca. 25 mL Wasser wurden durch Erhitzen 3 g Stärke gelöst. Es wurden ca. 1,5 g Glycerin, sowie 3 mL Salzsäure, $c = 0,1$ mol/L hinzugegeben. Die Lösung wurde bei geringer Hitze bedeckt für ca. 15 Minuten sieden gelassen.

Nach 15 Minuten wurde die Masse durch Zugabe von ca. 3 mL Natronlauge, $c = 0,1$ mol/L neutralisiert. Anschließend wurden im noch heißen Zustand 2 mg Aesculin hinzugegeben und gut umgerührt. Die Lösung fluoreszierte schwach, nach Zugabe weiterer Tropfen Natriumhydroxid-Lösung verstärkte sich die Fluoreszenz und die Mischung färbte sich leicht gelblich.

Die so hergestellte Masse wurde auf eine glatte, mit Aceton gesäuberte PP-Oberfläche gegeben und für etwa 3 Tage getrocknet. Beim Abkühlen wurde die Masse leicht trüb.

Anstatt Aesculin in Pulverform kann auch Kastanienzweigextrakt (etwa 25 mL mit heißem Wasser extrahiert) hinzugegeben werden, anschließend muss die Lösung wieder erhitzt und eingedampft werden – die Trockenzeit der Folie kann dadurch länger dauern.

Nach 3 Tagen haben sich kleine elastische Stücke gebildet, die sich leicht von der PP-Oberfläche ablösen ließen.

Die Bildung der Stärkefolie beruht auf der säurekatalysierten Verbindung mehrerer Stärkemoleküle – die wiederum aus mehreren α -D-Glucose-Bausteinen bestehen – zu einem stark vernetzten Polymer.

Gibt man Aesculin vor Ablauf dieser Reaktion zum Gemisch, kann die Stärke mit dem im Aesculin gebundenen α -D-Glucose-Baustein sowie der Hydroxygruppe reagieren und die Stoffeigenschaften des Aesculins nachhaltig verändern: Es bildete sich eine rosa Masse, die nach Zugabe von Natronlauge grünblau wurde. Die Zugabe von Säure konnte diese Reaktion jedoch leider nicht umkehren.

3.11. AESCULIN ALS WEIßMACHER

Ein etwa 10 x 10 cm großes weißes Stück Leinen, das keinen Weißmacher enthielt (Prüfung mit einer UV-Lampe) wurde für ca. 1 Stunde in ein Gefäß mit 100 mL Wasser gegeben, in dem zuvor ca. 2 mg Aesculin gelöst worden waren. Anschließend wurde das Stück unter Tageslicht betrachtet. Ein weiteres Stück desselben Stoffes wurde unbehandelt gelassen.

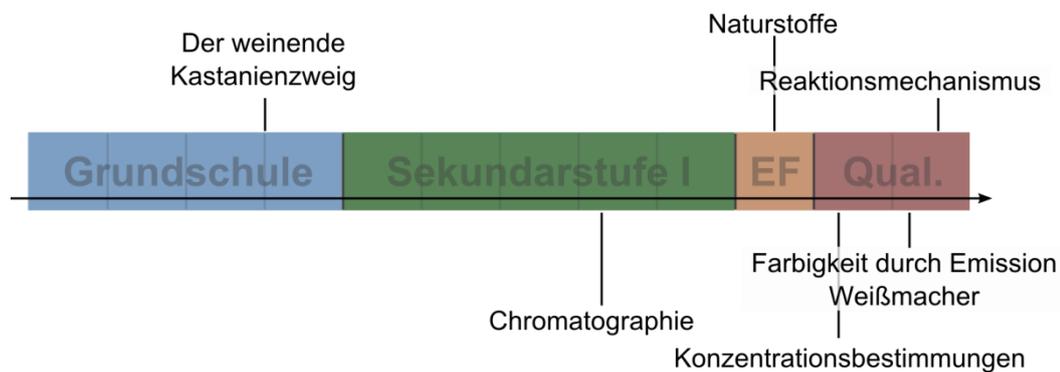
Das mit Aesculin behandelte Stück Leinen wirkte im Tageslicht ein wenig weißer als das unbehandelte Stück. Dieser Effekt war nach ca. einer Woche jedoch nicht mehr zu sehen.

Die weißmachende Wirkung des Aesculins beruht darauf, dass UV-Licht absorbiert und blaues Licht emittiert wird. Dadurch wirkt das Stück Leinen weniger vergilbt und somit weißer.

Mit der Zeit zersetzt sich das Aesculin, die Fluoreszenz geht verloren und damit auch der Weißmacher-Effekt.

4. DIDAKTISCHE ÜBERLEGUNGEN

Versuche mit Aesculin bzw. Kastanienzweigextrakten können über die gesamte Schullaufbahn der Schüler immer wieder zum Einsatz kommen. Die nachfolgende Grafik soll eine mögliche Einordnung der vorgestellten Versuche über die Zeit in die einzelnen Curricula verdeutlichen:



4.1. GRUNDSCHULE – DER WEINENDE KASTANIENZWEIG

Bereits in der Grundschule kann dieser Versuch den Schülerinnen und Schülern gezeigt werden. Der materielle Aufwand ist sehr gering und alle benutzten Stoffe sind gesundheitlich unbedenklich.

Im Sachunterricht kann mit dem Phänomen des weinenden Kastanienzweigs das Interesse der Kinder an den Naturwissenschaften geweckt und gleichzeitig der bewusste Umgang mit der Natur gefördert werden.

Den Schülerinnen und Schülern kann durch Vergleich mehrerer Zweige gezeigt werden, dass das Phänomen des weinenden Kastanienzweigs nur bei der Rosskastanie auftritt, andere Pflanzen jedoch nicht zu „bluten“ scheinen. In diesem Zusammenhang können die Kinder mit den einheimischen Bäumen bekannt gemacht werden.

Aufgrund der vorhandenen Assoziation des Blutens mit Schmerzen können die Kinder zu einem bewussteren Umgang mit der Natur erzogen werden. Der eigentliche Grund, dass Pflanzen als Sauerstofflieferant dienen, zum Beispiel auch der als „Lunge der Erde“ bezeichnete Regenwald, wird dabei zwar außer Acht gelassen, dies ist aber dem Wissen der Schüler angemessen.

4.2. STRUKTUR DER MATERIE - CHROMATOGRAPHIE

Die Chromatographie kann ebenfalls im Bereich der Grundschule eingesetzt werden. So kann die chromatographische Trennung von schwarzer Filzstiftfarbe ein weiteres Phänomen sein, das die Kinder dazu anregt, sich weiter mit den Naturwissenschaften zu beschäftigen. Die Auftrennung der Stoffe Aesculin und Fraxin bereits in der Grundschule durchzuführen erscheint didaktisch jedoch wenig sinnvoll.

In der Sekundarstufe I, Jahrgangsstufe 8, im Bereich des Basiskonzepts der Struktur der Materie (vgl. Lehrplan der Chemie der Sekundarstufe I [23]), bietet sich als Einstieg die nochmalige Durchführung des Versuchs „der weinende Kastanienzweig“ an. Mit den Schülerinnen und Schülern kann nun eine Hypothese darüber erarbeitet werden, ob es sich bei dem austretenden fluoreszierenden Stoff um einen Reinstoff handelt oder ein Stoffgemisch.

Zur Überprüfung der Hypothese kann die Chromatographie als laborpraktische Möglichkeit zur Trennung von Stoffen ein- und durchgeführt werden – dabei kann eventuell bereits in der Grundschule behandeltes Wissen reaktiviert werden.

Die Schülerinnen und Schüler lernen dabei, dass chemische Methoden auch zur Untersuchung von Naturstoffen genutzt werden können, wodurch sich Anknüpfungspunkte zu einem fächerübergreifenden Unterricht mit der Biologie ergeben.

4.3. NATURSTOFFE

In der Einführungsphase – EF (nach G9 die 11. Jahrgangsstufe) lernen die Schülerinnen und Schüler, dass sich der Mensch schon seit jeher die Stoffe der Natur zu Nutze macht. Seien es Duftstoffe in Parfums oder Inhaltsstoffe der Medizin.

Sie lernen chemische Verfahren kennen, mit denen sie diese Stoffe aus Pflanzen extrahieren können – zum Beispiel die Wasserdampfdestillation. Als weiteres chemisches Verfahren könnte in diesem Zusammenhang die Soxhlet-Extraktion besprochen und in einer Projektarbeit durchgeführt werden.

Dabei werden nicht nur laborpraktische Fähigkeiten geschult sondern die Schüler erfahren auch, wie und warum gewisse Verfahren angewandt werden, um organische Stoffe zu extrahieren.

Bei der Wahl des Extraktionsverfahrens des Aesculins aus Rosskastanien spielen mehrere wichtige Faktoren eine Rolle:

- Die geringe Stabilität des Aesculins in Wasser
- Die Gefahr des Zersetzens bei hohen Temperaturen
- Die geringe Löslichkeit in Propan-1-ol

Diese Eigenschaften können in Vorversuchen erarbeitet werden. Aus den gewonnenen Ergebnissen und mit lehrergestützter Rechercharbeit kann dann das Soxhlet-Verfahren und eine Destillation unter vermindertem Druck eingeführt werden.

4.4. KONZENTRATIONSBESTIMMUNGEN

Der Versuch des „weinenden Kastanienzweiges“ eignet sich auch im weiteren Kontext als Einstiegsversuch zum Themenbereich der Konzentrationsbestimmungen in der Qualifizierungsphase 1 (nach G9 die 11. Jahrgangsstufe).

Aesculin und Fraxin, die beiden Fluorophore, die aus einem Rosskastanienzweig austreten sind farblos. Sind geringe Mengen dieser beiden Stoffe in viel Wasser gelöst, so erscheint das Wasser unter normalem Licht klar und sauber. Erst im Dunkeln und unter UV-Licht werden die Stoffe dank ihrer Fluoreszenz sichtbar.

Daher bietet es sich an zwei Gefäße mit Wasser vorzubereiten und eines davon mit Hilfe eines Rosskastanienzweiges zu präparieren. Den Schülerinnen und Schülern kann man so auf eindrucksvolle Weise zeigen, dass sauber erscheinendes Wasser Verunreinigungen enthalten kann, die mit bloßem Auge nicht zu sehen sind.

Zu diesem Zeitpunkt kann, falls noch nicht geschehen, der Begriff der tödlichen Dosis eingeführt und somit zur Notwendigkeit der Konzentrationsbestimmungen übergeleitet werden.

Des Weiteren ergeben sich Anknüpfungspunkte zu einem fächerübergreifenden Unterricht mit Geographie: Es kann auf die Trinkwasserproblematik in den Ländern der Dritten Welt aufmerksam gemacht werden.

Durch diese Vorgehensweise werden chemische Kompetenzen in einen passenden Kontext eingebettet und die Schülerinnen und Schüler lernen einen Anwendungsbereich kennen, in dem chemische Kenntnisse wichtig sind.

4.5. FARBIGKEIT DURCH LICHTEMISSION

In der Qualifizierungsphase 2 (nach G9 die 12. Jahrgangsstufe) wird den Schülerinnen und Schülern die Thematik der Farbstoffe und das Zustandekommen von Farbigkeit vermittelt. Das Entstehen der Farbigkeit beruht in den meisten Fällen darauf, dass ein Stoff die Komplementärfarbe absorbiert. Daher erscheinen rote Stoffe in ihrer entsprechenden Farbe, weil die Komplementärfarbe grün aus dem Spektrum des sichtbaren Lichts absorbiert wird. Es handelt sich hierbei um eine sogenannte subtraktive Farbmischung.

Reines Aesculin erscheint jedoch farblos – ebenso wie eine Kastanienzweigextrakt-Lösung. Erst bei Bestrahlung mit UV-Licht erscheint die Lösung blau. Eine leicht alkalische Lösung aus Kastanienzweigextrakt erscheint bereits im Tageslicht etwas bläulich. Dies liegt daran, dass Aesculin nicht im sichtbaren Bereich des elektromagnetischen Spektrums absorbiert und daher weiß erscheint. Aesculin absorbiert stattdessen im UV-Bereich des elektromagnetischen Spektrums und emittiert blaues Licht.

Dieses Prinzip liegt den zahlreichen Weißmachern zugrunde, die in Waschmitteln vorhanden sind: Diese Stoffe absorbieren das nicht sichtbare UV-Licht und emittieren dafür bläuliches Licht. So behandelte Wäsche erscheint dadurch weniger vergilbt, da der Blauanteil des reflektierten Lichts erhöht wurde. Die Wäsche wirkt weißer.

Aesculin ist einer der ersten entdeckten Weißmacher, aufgrund seiner geringen Lichtbeständigkeit jedoch nicht mehr eingesetzt und durch andere, synthetische Weißmacher ersetzt.

In einem weiteren, modernen Kontext bietet sich die Besprechung der additiven Farbmischung ebenfalls an: OLED-Displays nutzen die additive Farbmischung zur Darstellung von über 16 Millionen verschiedener Farben.

Die Anregung der Stoffe geschieht hierbei jedoch nicht über UV-Licht sondern mit Hilfe von Elektrizität. Daher bieten sich anschließende Projekte zu Elektrolumineszenz und OLEDs an.

4.6. STRUKTUR UND FARBIGKEIT - REAKTIONSMECHANISMUS

Im Verlauf der Qualifizierungsphase 2 (nach G9 die 12. Jahrgangsstufe) kann der Zusammenhang zwischen der Struktur und der Farbigkeit eines organischen Stoffes erkundet werden. Dabei kann zum einen auf Phenolphthalein zurückgegriffen: Die Struktur des Indikators ändert sich durch Säure- bzw. Basezugabe so stark, dass Farbigkeit verschwindet bzw. auftritt. In Lösungen mit β -Cyclodextrinen kann jedoch auch die Farbigkeit in alkalischen Lösungen durch den Einfluss der β -Cyclodextrinmoleküle unterdrückt werden [22].

Mit den Naturstoffen Aesculin und Fraxin kann der Einfluss der Struktur auf das Fluoreszenzverhalten untersucht werden. Zum einen ist es möglich, nach chromatographischer Auftrennung den schwachen farblichen Fluoreszenzunterschied der beiden Stoffe zu beobachten, zum anderen kann das Fluoreszenzverhalten ebenfalls durch Zugabe von Säuren oder Basen beeinflusst werden.

Als letzter Schritt kann die Fluoreszenzabnahme des Aesculins in wässriger Lösung unter Bestrahlung betrachtet werden. Aus den Beobachtungen können die Schülerinnen und Schüler schlussfolgern, dass die Aesculin-Moleküle strukturell verändert worden sein müssen.

In einer Projektarbeit kann mit den Schülern der Reaktionsweg erkundet werden. Es kann der Einfluss der Faktoren Bestrahlungsdauer, Wellenlänge des eingesetzten Lichts und Lösemittel auf die Abnahme der Fluoreszenz beobachtet

werden. So kann mit den Schülerinnen und Schülern wissenschaftliches Arbeiten eingeübt bzw. gefördert werden.

5 ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK

ZUSAMMENFASSUNG

Die zu Beginn der Arbeit durchgeführten Mikroskopstudien konnten zeigen, dass der Fluorophor Aesculin nicht nur unter der Rinde der Rosskastanie vorhanden ist, sondern es auch im Mark der Zweige zu finden ist.

Die durchgeführten Extraktionen waren erfolgreich. Das erhaltene Produkt kann für einfache Versuche genutzt werden, könnte in weiteren Schritten jedoch noch chromatographisch getrennt werden.

In weiteren Schritten konnte die Lichtbeständigkeit in unterschiedlichen Lösemitteln und in einer Stärke-Matrix bestimmt werden. Diese Versuche ergaben des Weiteren einige Indizien, die für die intramolekulare Pinakolisierung des Aesculins unter Bestrahlung sprechen.

Es konnte auch der historisch beschriebene Weißmachereffekt des Aesculins nachvollzogen werden.

Einige bekannte Schulversuche (wie zum Beispiel die Herstellung einer Stärkefolie oder die Chromatographie) konnten durch Einbringung von Aesculin bzw. Kastanienzweigextrakt interessanter gestaltet werden.

Es wurden neue Versuche vorgeschlagen, mit denen wissenschaftliches Arbeiten im schulischen Kontext gefördert werden kann.

Des Weiteren können diese Versuche, da Aesculin in genügender Menge und ohne großen Aufwand aus Kastanienzweigen extrahiert werden kann, kostengünstig in der Schule durchgeführt werden.

Die Phänomene der Lumineszenzen sowie der Einfluss der angeregten Zustände auf intra- und intermolekulare Bindungen beschäftigen auch die aktuelle Forschung [21].

Der Einfluss verschiedener Substituenten auf lumineszierende Systeme sowie deren Stabilität ist aufgrund neuerer Entwicklungen im Bereich der immer wichtiger werdenden OLEDs interessant.

Um Schülerinnen und Schülern zu zeigen, dass Unterricht aktuell ist und ihre Lebenswelten berührt, ist es daher von Vorteil, entsprechende Phänomene zu besprechen und mit den richtigen Kontexten zu verknüpfen.

Die Synthese weiterer Cumarin-Derivate sowie der Einfluss der Substituenten auf Farbigkeit und Stabilität könnte daher für Projekte in der Schule aufgearbeitet werden.

Des Weiteren könnte die Trennung der Stoffe Inhaltsstoffe der Rosskastanie, um die Reinstoffe Aesculin und Fraxin zu erhalten für einen schulischen Kontext aufbereitet werden.

In einem weniger schulischen Kontext könnten die hier aufgezeigten Indizien und Formeln zur intramolekularen Pinakolisierung des Aesculins entweder verifiziert oder widerlegt werden. Dazu müsste eine ausreichend große Menge an Aesculin zur intramolekularen Pinakolisierung angeregt und anschließend die Produkte von den Edukten getrennt werden. Die Strukturaufklärung des bzw. der Produkte mittels ^1H -NMR und ^{13}C -NMR-Spektroskopie wäre dazu, wie bereits in der Arbeit erwähnt, nötig.

Neben all diesen Möglichkeiten, bietet das Aesculin viele Möglichkeiten für die Entwicklung fächerübergreifender Unterrichtsreihen in Chemie, Biologie und Physik. Er kann als Beispiel für einen Stoff, dessen Eigenschaften die Entwicklung weiterer Stoffe angestoßen hat, die heute oft unbemerkt in vielen Alltagsprodukten Verwendung finden, angeführt werden. In diesem Fall handelt es sich um die Weißmacher.

Die Entwicklung einer chemiehistorischen Unterrichtsreihe ist ebenso denkbar, wie der Einsatz als Modell für moderne Chemie. Eventuell lassen sich auch Möglichkeiten finden Cumarin-Derivate, wie Aesculin und Fraxin, zur Elektrolumineszenz anzuregen. Dieser Schritt könnte die aktuelle Forschung rund um OLEDs der Schule noch näher bringen.

LITERATURVERZEICHNIS

1. **R. Brandes, P. L. Geiger, und J. Liebig.** *Annalen der Pharmacie*. Heidelberg: s.n., 1833. S. 201-202. Bd. 8, (Angesehen über Google books am 27.01.2012).
2. **Anthoni, Julie, et al.** Enzymatic synthesis of oligoesculin: structure and biological activities characterizations. *European Food Research and Technology*. 2010, Bd. 4, 234, S. 571-579.
3. **Health Protection Agency.** National Standard Method BSOP TP Issue 2.1. *Aesculin hydrolysis test*. [Online] 2010. [Zitat vom: 27. Januar 2012.] http://www.hpa-standardmethods.org.uk/pdf_sops.asp.
4. **Behler, Ansgar und Schneider, Sabina.** RÖMPP Online. *optische Aufheller*. [Online] Thieme, Juli 2007. [Zitat vom: 25. Februar 2012.] <http://www.roempp.com/prod/>.
5. **Bowman, Robert L. und Alexander, Nelson.** Ozone-Induced Chemiluminescence of Organic Compounds. *Science*. 1966, Bd. 154, 3755.
6. **P. Weber, A. Martens und M. Ducci.** Die Chemie der Kastanie - Experimente mit Rosskastaniensamen. *CHEMKON*. 2007, Bd. 2, 14, S. 67-74.
7. **Bergische Universität Wuppertal.** Chemie und ihre Didaktik. *Weinender Kastanienzweig*. [Online] [Zitat vom: 27. Januar 2012.] http://www.chemiedidaktik.uni-wuppertal.de/alte_seite_du/material/lichtsp/v23.htm.
8. **Sigma-Aldrich.** Material Safety Data Sheet . *Coumarin*. 2011.
9. —. Material Safety Data Sheet. *Esculin sesquihydrate*. 2012.
10. **Tausch, Michael W. und Balzer, M.** Die Ketone und das Licht. *Praxis der Naturwissenschaften - Chemie in der Schule*. 1998, Bd. 7, 47, S. 14-20.
11. **Tausch, Michael, et al.** *Chemie 2000+ Sekundarstufe II*. Bamberg: C. C. Buchner, 2007. 978-3-7661-3415-8.

12. **Wöhrle, Dieter, Tausch, Michael W. und Stohrer, Wolf-Dieter.** *Photochemie.* Weinheim : Wiley-VCH, 1998.
13. **Zhang, Hongyi, et al.** Analysis of aesculin and aesculotin in Cortex fraxini by capillary zone electrophoresis. *Talanta.* 2000, Bd. 4, 52.
14. **Stanić, Gordana, Jurišić, Blaženka und Brkić, Dragomir.** HPLC Analysis of Esculin and Fraxin in Horse-Chestnut Bark (*Aesculus hippocastanum* L.). *CROATICA CHEMICA ACTA.* 1999, Bd. 4, 72.
15. **Hirsch, Anne-Marie, Longeon, Arlette und Guyot, Michèle.** Fraxin and esculin: two coumarins specific to *Actinidia chinensis* and *A. deliciosa* (kiwifruit). *Biochemical Systematics and Ecology.* 2002, Bd. 1, 30.
16. **Stobiecki, Maciej, Popenda, Mariusz und Gulewicz, Krzysztof.** Four coumarins isolated from seeds of *Lupinus angustifolius*. *Biochemical Systematics and Ecology.* 1993, Bd. 3, 21.
17. **Kim, Eunha und Park, Seung Bum.** Discovery of New Fluorescent Dyes: Targeted Synthesis or Combinatorial Approach? *Springer Series on Fluorescence.* 2010, Bd. 8, 2, S. 149-186.
18. **Rangaswami, S. und Seshadri, T. R.** A note on certain constitutional factors controlling visible fluorescence in compounds of the benzopyrene group. *Journal of Chemical Sciences.* 1940, 12.
19. **Crosby, Donald G. und Berthold, Robert V.** Fluorescence spectra of some simple coumarins. *Analytical Biochemistry.* 1962, Bd. 4, 5, S. 349-357.
20. **Smith, Gerald J., Dunford, Cara L. und Roberts, Peter B.** The photostability and fluorescence of hydroxycoumarins in aprotic solvents. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry.* 2010, 210, S. 31-35.
21. **Lee, Bum-Chun, et al.** Anti-Oxidative and Photo-protective Effects of Coumarins isolated from *Fraxinus chinensis*. *Archives of Pharmacal Research.* 30, 2007, Bd. 10, S. 1293-1301.

22. **Krees, Simone.** Wirt-Gast-Komplexe mit Cyclodextrinen - Strukturelle Merkmale und didaktisches Potenzial. Wuppertal : s.n., 2010.
23. **Merck KGaA.** Merck Chemicals. [Online] [Zitat vom: 23. März 2012.] www.chemdat.de.
24. **Carl Roth.** Sicherheitsdatenblatt - Fraxin. 9. März 2011.

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

B1: Aesculin.....	1
B2: Cumarin	3
B3: Energiestufen-Modell zur Anregung durch Licht.....	3
B4: Wärmeabgabe und Rückfall in den Grund-zustand.....	3
B5: Energiestufen-Modell zur Fluo-reszenz.....	4
B6: Energiestufen-Modell Bildung des energieärmeren Triplet-Zustands durch Spinumkehr	5
B7: Desaktivierung aus dem Triplet-Zustand	5
B8: Fraxin.....	8
B9: Kastanienzweig im Querschnitt	10
B10: Kastanienzweig in 100-facher Vergrößerung.....	11
B11: Aufnahme der Fluoreszenz unter UV-Licht - 3,2 Sekunden Belichtungszeit..	11
B12: Die Überlagerung der Bilder zeigt deutliches Aesculin-Vorkommen unter der Rinde	11
B13: Aesculin und Fraxin deutlich im Mark und unter der Rinde sichtbar	11
B14: Aesculin, $\geq 98\%$ in 1000-facher Vergrößerung.....	14
B15: Aesculin-Kristalle unter UV-Licht.....	14
B16: Kastanienzweig-Extrakt nach dem Trocknen.....	14
B17: Kastanienzweig-Extrakt unter UV-Licht	14
B18: Kastanienzweig-Extrakt in 100-facher Vergrößerung	14
B19: Kastanienzweig-Extrakt unter UV-Licht	14
B20: Der weinende Kastanienzweig	15
B21: Aesculin-Extrakt in Wasser	15
B22: Präparation der DC-Folie	18
B23: DC-Folie unter UV-Licht.....	18
B24: Phosphores-zenz von Aesculin	19
B25: Versuchsaufbau zur Aufnahme der Emissionsspektren.....	20
B26: Emissionsspektrum der benutzten UV-Lampe.....	21
B27: Emissionsspektren von Aesculin und Kastanienzweigextrakt in Glycerin.....	21
B28: Emissionsspektren von Aesculin in Wasser bei unterschiedlichen pH-Werten	22

B29: Emissionsspektren von Aesculin und Cumarin im Vergleich	23
B30: Versuchsaufbau der Bestrahlungsversuche	25
B31: Aesculin in Glycerin zu Beginn, nach 5 und nach 20 Minuten im Dunkeln	26
B32: Aesculin in Glycerin zu Beginn nach 5 und nach 20 Minuten unter Bestrahlung	26
B33: Aesculin in Wasser zu Beginn, nach 5 und nach 10 Minuten im Dunkeln	26
B34: Aesculin in Wasser zu Beginn, nach 5 und nach 10 Minuten unter Bestrahlung	26
B35: Aesculin in Stärkefolie zu Beginn, nach 15 und nach 55 Minuten im Dunkeln	27
B36: Aesculin in Stärkefolie zu Beginn, nach 15 und nach 55 Minuten unter Bestrahlung	27
B37: Aesculin nach 4 Stunden im Dunkeln (links) und nach 4 Stunden unter Bestrahlung (rechts).....	27
B38: Absorptionsspektrum von Aesculin in Wasser, $pH = 7$, vor und nach Bestrahlung	28
B39: Verlauf der Extinktionen von Aesculin und X bei $pH = 7$	29
B40: Absorptionsspektrum von Aesculin in Wasser, $pH = 3$, vor und nach Bestrahlung	30
B41: Verlauf der Extinktionen von Aesculin und X bei $pH = 3$	30
B42: Absorptionsspektrum von Aesculin in Wasser, $pH = 9$, vor und nach Bestrahlung	31
B43: Verlauf der Extinktionen von Aesculin und X bei $pH = 9$	31
B44: Absorptionsspektren von Aesculin in Isopropanol vor und nach 60 Minuten unter Bestrahlung	32
B45: Zeitlicher Verlauf der Extinktion von Aesculin und X in Isopropanol.....	33
B46: Absorptionsspektren von Aesculin in einem Isopropanol/Wasser-Gemisch vor und nach 55 Minuten unter Bestrahlung.....	33
B47: Verlauf der Extinktionen von Aesculin und X in Isopropanol/Wasser	34
B48: Absorptionsspektrum von Aceton/Wasser	34
B49: Absorptionsspektren von Aesculin in Aceton/Wasser, $pH = 9$	35
B50: Zeitlicher Verlauf der Extinktion von Aesculin in Aceton/Wasser, $pH = 9$	35
B51: Absorptionsspektren Aesculin, Wasser/Aceton 200:1, $pH = 9$	36

B52: Absorptionsspektrum von Cumarin, 3 mg in 200 mL Propan-1-ol	37
B53: Absorptionsspektrum Benzol, Verdünnung: 1 Tropfen auf 25 mL Propan-1-ol	38
B54: 7-Diethylamino-4-methylcumarin	39
B55: Struktur eines Aesculin-Ions	40
B56: Aesculin-Ion nach Drehung um C-O-Bindung mit eingezeichneten VAN-DER-WAALS-Radien	40
B57: 3D-Ansicht des möglichen Produkts	41
B58: Mögliches Produkt einer Pinakolisierung von Aesculin und Propan-2-ol	42
B59: Mögliches Produkt nach Fluoreszenzlöschung des Aesculins im alkalischen	44

ANHANG A: GEFÄHRSTOFFHINWEISE NACH GHS

ACETON [23]

H-Sätze: **H225, H319, H336, EUH066**

P-Sätze: P210, P233, P305+P351+P338



AESCULIN-HYDRAT [9]

H-Sätze: -

P-Sätze: -

CUMARIN [8]

H-Sätze: **H301**

P-Sätze: -



EISEN(III)-CHLORID [23]

H-Sätze: **H302, H315, H318, H317**

P-Sätze: P280, P302+P352, P305+P351+P338



ETHANOL [23]

H-Sätze: **H225**

P-Sätze: P210



FRAXIN [24]

H-Sätze: -

P-Sätze: -

GLYCERIN [23]

H-Sätze: -

P-Sätze: -

KALIUMHEXACYANOFERRAT(III) [23]

H-Sätze: -

P-Sätze: -

NATRIUMHYDROXID [23]

H-Sätze: **H290, H314**

P-Sätze: P280, P301+P330+P331, P305+P351+P338



PROPAN-1-OL [23]

H-Sätze: **H225, H318, H336**

P-Sätze: P210, P233, P305+P351+P338, P313



PROPAN-2-OL [23]

H-Sätze: **H225, H319, H336**

P-Sätze: P210, P233, P305+P351+P338



SALZSÄURE, $C = 0,1 \text{ MOL/L}$ [23]

H-Sätze: -

P-Sätze: -

STÄRKE [23]

H-Sätze: -

P-Sätze: -

ANHANG B: VERFAHREN „BOXCAR“ [24]

Mit dem *Ocean Optics Red Tide USB 650* können Emissionsspektren mit hoher Auflösung aufgenommen werden. Die Messungen beginnen bei $\lambda = 341,5$ nm und werden in 0,33 nm-Schritten bis 1025 nm aufgenommen. Im Bereich von 340 nm bis 1025 nm werden so über 2000 Messwerte erfasst.

Bei schwachen Emissionen tritt beim Sensor jedoch das sogenannte „Rauschen“ auf: Es kommt zu geringen Messwerten von Lichtquanten die nicht im Emissionsspektrum der UV-Lampe oder dem fluoreszierenden Stoff liegen. Dadurch können Messwerte höher ausfallen als sie sind. Es kommt zu vielen kleinen Peaks.

Um diesen Effekt abzumildern bietet der *Xplorer GLX™* das sogenannte Boxcar-Verfahren an. Man kann die Stärke des Verfahrens zwischen 0 und 100 einstellen. Bei der Einstellung „Boxcar n“ wird aus dem jeweiligen Messwert einer Wellenlänge sowie den n „rechts“ und n „links“ benachbarten Wellenlängen der Mittelwert gebildet. Dieser Wert wird dann als Wert für diese Wellenlänge aufgezeichnet.

„Boxcar 0“ entspricht somit der direkten Übernahme des gemessenen Wertes, beim während der Arbeit angewandten Verfahren „Boxcar 5“ wurde der Mittelwert über insgesamt 11 benachbarte Messwerte gebildet.

ANHANG C: ERKLÄRUNG ÜBER DAS SELBSTÄNDIGE VERFASSEN DER ARBEIT

VERSICHERUNG

Hiermit versichere ich, dass ich die schriftliche Hausarbeit selbständig verfasst und keine anderen Quellen und Hilfsmittel als die angegebenen benutzt habe. Die Stellen der schriftlichen Hausarbeit, die anderen Werken dem Wortlaut oder Sinn nach entnommen wurden, habe ich in jedem Fall unter Angabe der Quelle als Entlehnung kenntlich gemacht. Entsprechendes gilt für die beigegebenen Zeichnungen, Kartenskizzen und Darstellungen.